

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Urška VEHOVEC

**VPLIV KOSTANJEVEGA TANINA NA  
PREBAVLJIVOST HRANIL PRI RASTOČIH  
PRAŠIČIH**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Urška VEHOVEC

**VPLIV KOSTANJEVEGA TANINA NA  
PREBAVLJIVOST HRANIL PRI RASTOČIH PRAŠIČIH**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF TANNIN RICH SWEET CHESTNUT WOOD  
EXTRACT ON THE DIGESTIBILITY IN GROWING PIGS**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je konec univerzitetnega študija kmetijstvo-zootehnika. Delo v kemijskem laboratoriju je bilo opravljeno na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, prehranski poskus pa je bil izveden v poskusnem hlevu Farme Ihan d.d.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja imenovala prof. dr. Janeza Salobirja.

Recenzent: doc. dr. Tatjana Pirman

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Ivan ŠTUHEC  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Janez SALOBIR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Tatjana PIRMAN  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Urška VEHOVEC

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn  
DK UDK 636.4.084/.087(043.2)=163.6  
KG prašiči/tekači/prehrana živali/hranila/prebavljivost/kostanjev tanin  
KK AGRIS L51/5300  
AV VEHOVEC, Urška  
SA SALOBIR, Janez (mentor)  
KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko  
LI 2010  
IN VPLIV KOSTANJEVEGA TANINA NA PREBAVLJIVOST HRANIL PRI RASTOČIH PRAŠIČIH  
TD Diplomaska naloga (univerzitetni študij)  
OP VIII, 45 str., 11 pregl., 6 sl., 53 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI V prehranski raziskavi smo na 32 tekačih proučili ali dodatek vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (*Castanea sativa* Mill.) vpliva na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost surovih beljakovin, surovih maščob, fosforja, kalcija in železa. Prašiči so bili individualno vhlavljeni v bilančne kletke in naključno razdeljeni v 4 skupine s po 8 živali. Živali so bile restriktivno krmljene z izoenergijskimi obroki. Kontrolna skupina je dobivala krmo brez dodatka ekstrakta kostanjevega lesa (Kont), preostalim skupinam pa smo dodajali različne koncentracije rastlinskega ekstrakta (KoEx: 0,75, 1,5 in 3,0 g/kg) v obliki preparata, ki je vseboval 75 % hidrolizirajočih taninov. Tekom 5-dnevnega poskusnega obdobja smo kvantitativno zbirali blato in seč. Rezultati raziskave so pokazali, da vodni ekstrakt iz kostanjevega lesa pri največji koncentraciji (3,0 g/kg) statistično značilno vpliva le na zmanjšanje prebavljivosti, bilance in izkoristljivosti surovih beljakovin. Na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost preostalih hranljivih snovi taninski preparat ni imel statistično značilnega vpliva.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 636.4.084/.087(043.2)=163.6  
CX pigs/growing pigs/animal nutrition/nutrients/digestibility/chestnuts/tannin  
CC AGRIS L51/5300  
AU VEHOVEC, Urška  
AA SALOBIR, Janez (supervisor)  
PP SI-1230 Domžale, Groblje 3  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science  
PY 2010  
TI THE EFFECT OF TANNIN RICH SWEET CHESTNUT WOOD EXTRACT ON  
THE DIGESTIBILITY IN GROWING PIGS  
DT Graduation Thesis (University studies)  
NO VIII, 45 p., 11 tab., 6 fig., 53 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB In the nutritional research with 32 young castrated male pigs the effect of sweet chestnut wood extract (*Castanea sativa* Mill.) on digestibility, balance and utilization of crude protein, crude fat, phosphorus, calcium and iron was studied. Pigs were individually penned in balance cages and randomly assigned to 4 different isoenergetic dietary treatments. Pigs were fed restrictively. The control group was fed without tannin supplement (Kont), the other groups were additionally supplemented with different concentrations of plant extract (KoEx: 0.75, 1.5 and 3.0 g/kg). Plant extract was provided as the preparation containing 75 % mainly hidrolysable tannins. During the five day balance period faeces and urine were quantitatively collected. The results of our study revealed that sweet chestnut wood extract at the highest concentration (3.0 g/kg) had statistically significant effect only on the decreased digestibility, balance and utilisation of crude protein. On the digestibility, balance and utilisation of other studied nutrients tannin supplements had no statistical effect.

## KAZALO VSEBINE

|   | str.      |
|---|-----------|
| Ključna dokumentacijska informacija (KDI)                             | III       |
| Key words documentation (KWD)   | IV        |
| Kazalo vsebine  | V         |
| Kazalo preglednic   | VII       |
| Kazalo slik   | VIII      |
| <br>  |           |
| <b>1 UVOD</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1 NAMEN DELA IN DELOVNA HIPOTEZA                                    | 2         |
| <b>2 PREGLED OBJAV</b>  | <b>3</b>  |
| 2.1 TANINI  | 3         |
| <b>2.1.1 Prisotnost taninov v naravi</b>                              | <b>3</b>  |
| <b>2.1.2 Vrste taninov</b>  | <b>4</b>  |
| 2.1.2.1 Hidrolizirajoči tanini  | 4         |
| 2.1.2.2 Kondenzirani tanini   | 5         |
| <b>2.1.3 Tanini kostanjevega lesa</b>                                 | <b>7</b>  |
| 2.2 DELOVANJE IN UČINKI TANINOV                                       | 9         |
| <b>2.2.1 Povezovanje taninov s hranljivimi snovmi</b>                 | <b>9</b>  |
| 2.2.1.1 Kompleksi z beljakovinami                                     | 9         |
| 2.2.1.2 Kompleksi z ogljikovimi hidrati                               | 10        |
| <b>2.2.2 Vpliv taninov na zauživanje krme</b>                         | <b>10</b> |
| <b>2.2.3 Vpliv taninov na prebavljivost in izkoristljivost hranil</b> | <b>11</b> |
| <b>2.2.4 Vpliv taninov na mikrofloro</b>                              | <b>16</b> |

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>2.2.5</b> | <b>Vpliv taninov na oksidacijski stres</b>     | <b>17</b> |
| <b>2.2.6</b> | <b>Vpliv taninov na proizvodne lastnosti</b>   | <b>17</b> |
| <b>2.2.7</b> | <b>Tanini kot silirni dodatki</b>              | <b>18</b> |
| 2.3          | MOŽNOSTI OMEJEVANJA DELOVANJA TANINOV          | 20        |
| 2.4          | MERJENJE PREBAVLJIVOSTI                        | 20        |
| <b>2.4.1</b> | <b>Navidezna in prava prebavljivost</b>        | <b>21</b> |
| <b>2.4.2</b> | <b>Vplivi na prebavljivost</b>                 | <b>21</b> |
| <b>3</b>     | <b>MATERIAL IN METODE</b>                      | <b>23</b> |
| 3.1          | SESTAVA OSNOVNE KRMNE MEŠANICE IN OBROKOV      | 24        |
| 3.2          | SESTAVA VODNEGA EKSTRAKTA IZ KOSTANJEVEGA LESA | 25        |
| 3.3          | DELO V KEMIJSKEM LABORATORIJU                  | 26        |
| 3.4          | OBDELAVA PODATKOV                              | 29        |
| <b>4</b>     | <b>REZULTATI</b>                               | <b>31</b> |
| <b>5</b>     | <b>RAZPRAVA</b>                                | <b>35</b> |
| <b>6</b>     | <b>SKLEPI</b>                                  | <b>39</b> |
| <b>7</b>     | <b>VIRI</b>                                    | <b>40</b> |
|              | <b>ZAHVALA</b>                                 |           |

## KAZALO PREGLEDNIC

|   | str. |
|---|------|
| Preglednica 1: Poskusne skupine (Salobir in sod., 1997, 2005)   | 14   |
| Preglednica 2: Vpliv kostanjevega tanina in fitaze na prebavljivost in izkoristljivost P in Ca ter koncentracijo nekaterih mineralov v serumu (Salobir in sod., 1997, 2005) | 15   |
| Preglednica 3: Sestava in kemijska analiza krmnih mešanic za rastoče prašiče  | 24   |
| Preglednica 4: Sestava premiksa za rastoče prašiče  | 25   |
| Preglednica 5: Kemijska sestava ekstrakta kostanjevega lesa – Farmatan 75 <sup>TM</sup>   | 26   |
| Preglednica 6: Povprečna telesna masa prašičev na začetku in koncu poskusa ter prirast v poskusnem obdobju  | 31   |
| Preglednica 7: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost surovih beljakovin   | 32   |
| Preglednica 8: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost in bilanco surovih maščob  | 32   |
| Preglednica 9: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost in bilanco fosforja  | 33   |
| Preglednica 10: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost kalcija   | 33   |
| Preglednica 11: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost železa  | 34   |



## KAZALO SLIK

|   | str. |
|---|------|
| Slika 1: Galna kislina (Bennick, 2002)  | 5    |
| Slika 2: Heksahidroksidifenska kislina (Mangan, 1988)   | 5    |
| Slika 3: Osnovna struktura kondenziranih taninov (Bennick, 2002)  | 6    |
| Slika 4: Flavan-3-ol (Mangan, 1988)   | 6    |
| Slika 5: Proantocianidin (Mangan, 1988)   | 7    |
| Slika 6: Hidrolizirajoči tanini (elagitanini) kostanjevega lesa-kastalagin, veskalagin, kastalin, veskalin (Mueller-Harvey, 2006) | 8    |

## 1 UVOD

Tanini so v naravi prisotni v različnih rastlinskih produktih. V rastlinskem svetu delujejo zaščitno proti najrazličnejšim povzročiteljem bolezni rastlin in živali, kot so bakterije, plesni in virusi ter rastlinski škodljivci. V pogojih naravne prehrane živali zaužijejo tanine z rastlinami, kjer se nahajajo v različnih oblikah in koncentracijah. V pogojih intenzivne reje pa lahko tanine v današnjem času uspešno uporabljamo same ali v kombinaciji kot krmni dodatek.

Tanini so bili dolgo časa v prehrani živali obravnavani kot nezaželjene snovi. Starejše raziskave so namreč pokazale, da imajo predvsem negativne učinke, sedaj pa številne raziskave kažejo, da imajo tanini lahko tudi pozitivne oz. koristne učinke. A na znanje je potrebno vzeti, da so učinki, ki jih povzročajo tanini, odvisni od vrste in količine taninov kakor tudi od vrste in kategorije živali (Jansman, 1993).

Negativni učinki taninov so povezani predvsem z zmanjšanjem razpoložljivosti hranljivih snovi, zato jih uvrščamo med antinutritivne snovi. Krmila, ki vsebujejo tanine, imajo zato majhno hranilno vrednost (Lavrenčič in Levart, 2004). Vzroka za zmanjšano prebavljivost krme z visoko vsebnostjo taninov sta predvsem neokusnost le-te zaradi astringentnega delovanja taninov, ki se odraža v trpkem okusu in sposobnost vezave ter precipitacije beljakovin. Zato se pri krmljenju večje količine taninov izkoristljivost hranil zmanjša, saj se le-te v večjem obsegu izločajo z ekstrementi. Živali se na zauživanje rastlin z velikim deležem taninov poleg povečanega izločanja beljakovin, obogatenih s prolinom v slini, ki se vežejo s tanini, prilagodijo tudi s spremembo pH vrednosti v prebavilih, s tvorbo surfaktantov ali s spremembo zauživanja krme (Mueller-Harvey, 1999, cit. po Frankič, 2009). Nezaželjene snovi torej predvsem zmanjšujejo prebavljivost beljakovin, suhe snovi (Antongiovanni in sod., 2007; Mueller-Harvey, 2006), ogljikovih hidratov (Reed, 1995), vsebnost neto in presnovljive energije, zauživanje krme, poslabšujejo konverzijo ter posledično zmanjšajo priraste (Lavrenčič in Levart, 2004). Tanini torej vplivajo na prebavo živali in posledično na rast (Bennick, 2002) ter proizvodne lastnosti.

Najnovejša spoznanja pa kažejo, da imajo tanini lahko tudi pozitivne oz. ugodne učinke. V prehrani živali so se tanini izkazali za snovi z antioksidativnimi, antimikrobiološkimi in

antihelmintičnimi lastnostmi. Rastlinski ekstrakti taninov torej preprečujejo razširjanje črevesnih parazitov, bakterij, protozojev in virusov ter se uporabljajo v medicini za tretiranje driske in griže (Lewis, 2003, cit. po Salobir in sod., 2005) oz. vplivajo na razvoj in zdravstveno stanje organizma (Schiavone in sod., 2008). Predvsem ekstrakt lesa pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) je primeren za preprečitev drisk pri pujskih (Mueller-Harvey, 2006; Jordanov in sod., 2001). Tanini kot naravni antioksidanti tudi vzdržujejo normalno delovanje in imunski sistem organizma, saj preprečujejo oksidativne okvare, ki lahko privedejo do raka, kardiovaskularnih bolezni, artritisa in prezgodnjega staranja (Frankič in Salobir, 2007; Hagerman, 2002).

Če povzamemo, lahko za tanine rečemo, da so dvorezni meč, saj pri ljudeh kakor tudi pri živalih z antimikrobnim, antikancerogenim in antimutagenim delovanjem ugodno vplivajo na zdravje organizma, po drugi strani pa njihovo zauživanje lahko povzroča raka na požiralniku, poškodbe jeter, slabši imunski odziv in slabo izkoristljivost hranil (Chung in sod., 1998, cit. po Frankič, 2009) ter manjšo telesno maso (Longstaff in McNab, 1991a).

## 1.1 NAMEN DELA IN DELOVNA HIPOTEZA

Namen raziskave je bil preveriti vpliv treh različnih koncentracij kostanjevega tanina na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost surovih beljakovin, surovih maščob, fosforja, kalcija in železa.

Delovna hipoteza raziskave je bila, da dodatek taninskega preparata v krmo zmanjša prebavljivost beljakovin, saj se le-te v večjem obsegu izločijo z blatom.

## **2 PREGLED OBJAV**

### **2.1 TANINI**

Tanini so sekundarni rastlinski produkti, katerih osnovna gradbena enota je fenol, ki je značilnost skupine polifenolov. Sestavljeni so torej iz fenolnih obročev, katerih hidroksilne skupine so večinoma proste in ne derivatizirane, kot pri ligninu. Najmanjša molekulska masa taninov je zaradi večjega števila fenolnih obročev v molekuli okoli 500 Da, največja pa dosega tudi do 3000 Da (Lavrenčič, 2001; Jansman, 1993). So topni v vodi, njihova topnost pa se zmanjšuje s povečevanjem molekulske mase (Lavrenčič, 2001; Kumar, 1992). Na splošno so tanini tudi odporni na vročino (Jansman, 1993).

V preteklosti so tanine uporabljali pri izdelavi usnja iz živalskih kož. Pri strojenju usnja tanini tvorijo stabilne komplekse s kolagenom (Bennick, 2002; Lavrenčič, 2001; Muzquiz in Wood, 2007).

Polifenolne spojine pa ne tvorijo samo trdne vezi s kožnimi beljakovinami, ampak tudi s preostalimi beljakovinami iz vodne raztopine, ogljikovimi hidrati (pektin, celuloza, hemiceluloza), minerali in vitamini (Jansman, 1993; Mangan, 1988) ter s prebavnimi encimi (Jansman, 1993; De Lange in sod., 2000) in mikroorganizmi prebavnega trakta (Komprej in sod., 2003).

#### **2.1.1 Prisotnost taninov v naravi**

Tanini so naravne polifenolne spojine, katere najdemo v lesu, steblih, listih, sadežih in semenih številnih rastlinskih vrst (Komprej in sod., 2003; Lavrenčič, 2001). Znani so tudi kot sekundarni metaboliti rastlin in se nahajajo predvsem v krmi živali in sicer v žitih (sirek, ječmen, proso) in ogrščičnem semenu (Jansman, 1993; Salobir in sod., 1997), arašidih in sončničnem semenu (Huisman in sod., 1990) ter metuljnicah, med katere prištevamo bob, čičeriko, fižol, grah, lečo in sojo (Jansman, 1993; Jansman in Longstaff, 1993; Lallès in Jansman, 1998; Salobir in sod., 1997; Reed, 1995). Polifenolne spojine vsebujejo še lucerna, medena detelja, turška detelja ali esperzeta, plazeča detelja in črna detelja (Jansman, 1993).

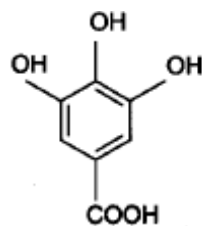
Tanini so prisotni tudi v humani prehrani in sicer v pijačah, kot so čaj, rdeče vino in pivo (Bennick, 2002; Jansman, 1993) ter mošt, kava in kakav (Bennick, 2002). Naravne polifenolne spojine vsebujejo še banane, granatno jabolko, kaki, jagode, maline, borovnice, grozdje (Bennick, 2002; Jansman, 1993), dateljni, breskve, hruške in slive (Jansman, 1993).

### **2.1.2 Vrste taninov**

Tanini ne predstavljajo strukturno enotnih snovi (Bennick, 2002; Lavrenčič, 2001) oz. niso kemično povsem jasno definirani in so med seboj povezani le v nekaterih skupnih lastnostih (Jansman, 1993). Tanine razdelimo glede na kemijsko strukturo, reaktivnost s hidrolitičnimi reagenti (Muzquiz in Wood, 2007), odpornost na hidrolizo, prehranskih učinkih in toksičnosti na hidrolizirajoče in kondenzirane tanine (Kumar in Vaithyanathan, 1990, cit. po Grm, 2006 in po Suhoveršnik, 2005). Kondenzirani in hidrolizirajoči tanini se razlikujejo v vrstah vezi v polimeru in zato so hidrolizirajoči tanini podvrženi hidrolizi, kondenzirani pa ne. Hagerman in sod. (1992) so dognali, da hidrolizirajoči tanini ne vplivajo na prebavljivost beljakovin, medtem ko jo kondenzirani tanini zmanjšajo. Hidrolizirajoči tanini so v primerjavi s kondenziranimi tudi toksični (Mueller-Harvey, 2006), saj se tekom pasaže skozi prebavni trakt razgradijo na manjše fenolne podenote in absorbirajo ter posledično povzročajo nekrotične spremembe na ledvicah in jetrih (Jansman in Longstaff, 1993). Hidrolizirajoči tanini so tudi bolj topni v vodi (Reed, 1995). Najpomembnejša skupna lastnost taninov pa je sposobnost tvorbe vezi z beljakovinami, fosfolipidi in ostalimi snovmi, kot so kovinski ioni (Lavrenčič, 2001). Zaradi različne kemijske strukture taninov so s strani Frankič (2009) predvideni tudi različni učinki ob uporabi različnih vrst in količine taninov pri različnih živalskih vrstah.

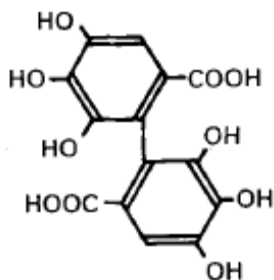
#### **2.1.2.1 Hidrolizirajoči tanini**

Hidrolizirajoči tanini imajo ogljikohidratno jedro (večinoma glukozo), katerega hidroksilne skupine so zaestrene s fenolnimi karboksilnimi kislinami in sicer z galno (slika 1), elagno in heksahidroksidifensko kislino (slika 2).



Slika 1: Galna kislina (Bennick, 2002)

Estri z galno in elagno kislino so galotanini, estri s heksahidroksidifensko kislino pa se imenujejo elagitanini (Bennick, 2002; Jansman, 1993; Mangan, 1988). Predstavnika monomernih elagitaninov sta kastalagin in veskalagin, ki sta prisotna v kostanju (Hagerman, 2002).



Slika 2: Heksahidroksidifenska kislina (Mangan, 1988)

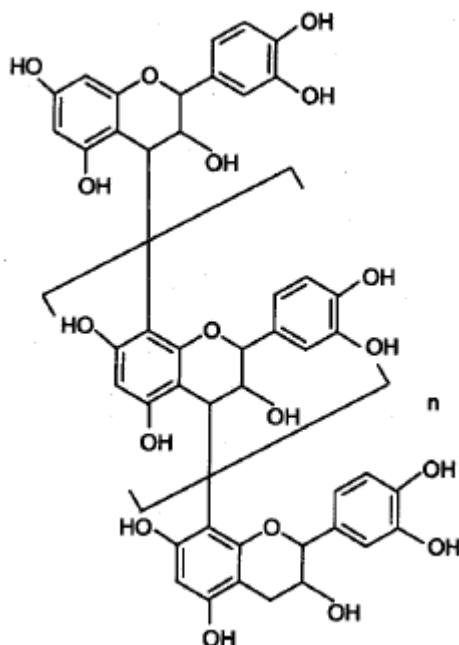
Hidrolizirajoči tanini razpadejo v prisotnosti kislin, alkoholnih reagentov in encimov esteraz (Lavrenčič, 2001; Reed, 1995). Pri hidrolizi heksahidroksidifenske kisline nastane elagna kislina, pri hidrolizi galotaninov pa se tvori galna kislina in glukoza (Bennick, 2002).

Tipičen hidrolizirajoči tanin je taninska kislina, ki jo uvrščamo med galotanine (Jansman, 1993) in naj bi vsebovala od 8 do 10 molov galne kisline na mol glukoze ter jo najdemo v listih in lubju številnih rastlinskih vrst, kot so kebulski mirobalanovec, dob, črničevje, hrast in ruj (Mangan, 1988).

#### 2.1.2.2 Kondenzirani tanini

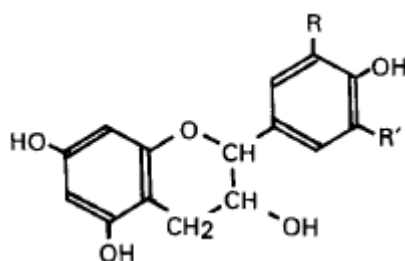
Kondenzirani tanini (slika 3) nimajo ogljikohidratnega jedra, a se vseeno pojavljajo kot polimeri (Mangan, 1988). Monomerne enote kondenziranih taninov predstavljajo

flavanolne enote (flavan-3-ol in flavan-3,4-diol), ki se med seboj povezujejo z ogljikovimi (C-C) vezmi (Bennick, 2002; Jansman, 1993).



Slika 3: Osnovna struktura kondenziranih taninov (Bennick, 2002)

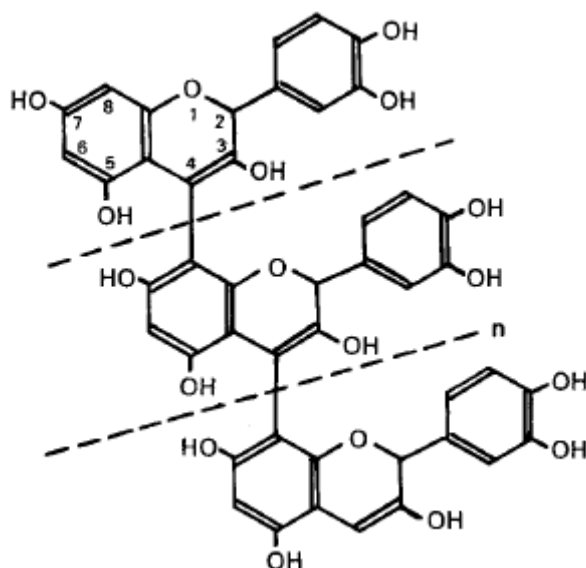
Kondenzirani tanini, v katerih prevladuje flavan-3-ol (slika 4), se imenujejo katehini ali epikatehini. Ker se pri oksidaciji v prisotnosti vročih alkoholov obarvajo in tvorijo antocianidine, jih imenujemo tudi proantocianidini (Hagerman, 2002). Stopnja polimerizacije zelo variira, in sicer od 50 do več kot 30000 flavanolnih enot (Bennick, 2002).



Slika 4: Flavan-3-ol (Mangan, 1988)

Kondenzirani tanini, v katerih prevladuje flavan-3,4-diol, pa se imenujejo leukoantocianidini in jih pogosto zamenjujejo s proantocianidini. Gre za monomere flavonoidov, ki pri segrevanju ob prisotnosti kisline tvorijo antocianidine. Kemijska podobnost je prisotna, a leukoantocianidini niso sposobni kompleksov z beljakovinami (Hagerman, 2002).

Kondenzirani tanini z majhno molekulsko maso so topni v vodi in organskih topilih, medtem ko so omenjeni tanini z večjo molekulsko maso netopni (Bennick, 2002). Proantocianidini (slika 5) so odporni na hidrolizo (Lavrenčič, 2001).



Slika 5: Proantocianidin (Mangan, 1988)

Kondenzirani tanini so najbolj razširjeni in tipični rastlinski polifenoli takoj za ligninom (Espín in sod., 2007). Proantocianidini so najbolj pogosti v krmnih metuljnicah (Reed, 1995). Nahajajo se torej predvsem v sirku, turški detelji, fižolu (Mangan, 1988), ječmenu, prosu, grahu, čičeriki, bobu, in leči (Jansman, 1993). V humani prehrani pa so prisotni v grozdju, jabolkih, jagodah, oreščkih, kakavu in vinu (Espín in sod., 2007).

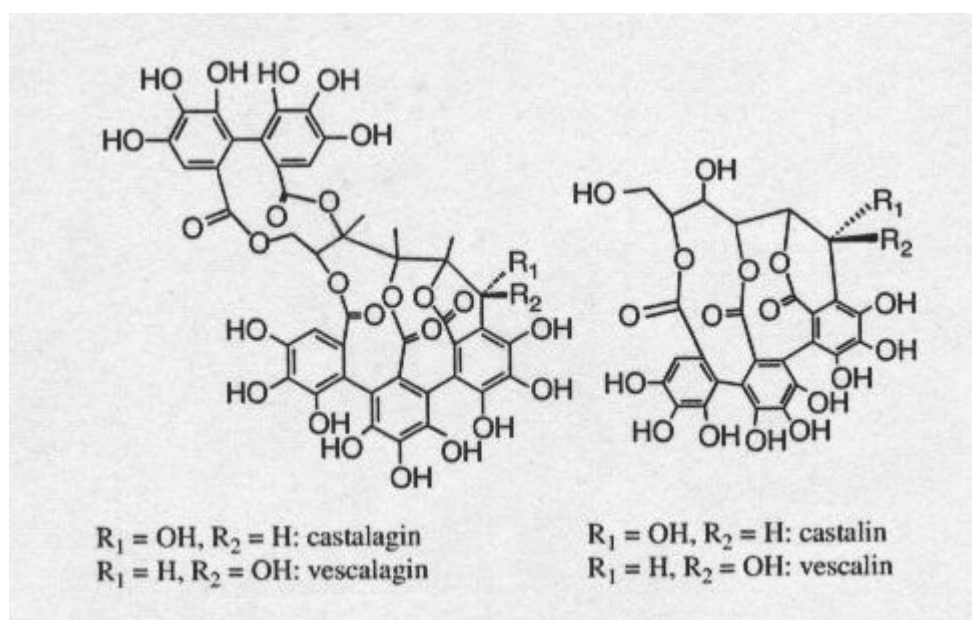
### 2.1.3 Tanini kostanjevega lesa

Naravni izvleček iz zdravega kostanjevega lesa (*Castanea Sativa* Mill.) je pridobljen z vodno ekstrakcijo, ki ohranja osnovne lastnosti proizvoda in vsebuje 75 % taninov. Vodni



ekstrakt je torej mešanica estersko in glikozidno vezanih hidrolizirajočih in kondenziranih taninov, v kateri močno prevladujejo hidrolizirajoči tanini. Poleg omenjenih vodotopnih rastlinskih polifenolov vsebuje izvleček še lignin, celulozo, enostavne sladkorje in mineralne snovi (Farmatan, 2009). Po izgledu gre za amorfen rjav prašek, kiselkastega in trpkega okusa (Farmatan, 2007).

Les navadnega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) je eden glavnih virov komercialno pomembnih hidrolizirajočih taninov (slika 6). Glavni komponenti vodnega ekstrakta kostanjevega lesa sta dva elagitanina, in sicer kastalagin in veskalagin (Lampire, 1998, cit. po Frankič, 2009).



Slika 6: Hidrolizirajoči tanini (elagitanini) kostanjevega lesa-kastalagin, veskalagin, kastalin, vescalin (Mueller-Harvey, 2006)

V Evropski uniji se lahko izvleček iz lesa pravega kostanja uporablja kot senzorični ali silirni dodatek, in sicer kot samostojni dodatek ali v kombinaciji z drugimi krmnimi dodatki. V povezavi z ostalimi krmnimi dodatki se rastlinski ekstrakt pojavlja neposredno v krmnih obrokih sveže ali konzervirane voluminozne krme ali pa v popolnih in dopolnilnih krmnih mešanicah. Kostanjev izvleček se dodaja v krmo vsem gospodarsko pomembnim živalim (prašiči, perutnina, kunci, govedo in teleta) v obliki praška, gela ali kapsule, saj po trditvah proizvajalca zagotavlja boljšo proizvodnost in zdravstveno stanje

živali ter učinkovitejšo izkoristljivost hranljivih snovi krme (Farmatan, 2009). Pri hidrolizi se ekstrakt popolnoma razgradi do glukoze in galne kisline, ki se brez težav izloča z urinom. Zatorej je meso in mleko živali, ki so zaužile kostanjev izvleček, primerno za prehrano ljudi (Farmatan, 2007).

## 2.2 DELOVANJE IN UČINKI TANINOV

### 2.2.1 Povezovanje taninov s hranljivimi snovmi

Tanini imajo sposobnost vezave z različnimi molekulami, kot so beljakovine, ogljikovi hidrati, vitamini ter rudninskimi snovmi ali minerali (Jansman, 1993; Mangan 1988). Komplekse tvorijo tudi s prebavnimi encimi (Jansman, 1993; De Lange in sod., 2000) in mikroorganizmi prebavnega trakta (Kompreg in sod., 2003).

#### 2.2.1.1 Kompleksi z beljakovinami

Tanini se vežejo z beljakovinami preko interakcije reaktivnih hidroksilnih skupin s karbonilnimi skupinami beljakovin (Jansman, 1993). Tanini torej tvorijo komplekse z beljakovinami z vodikovimi vezmi in hidrofobnimi interakcijami (Jansman in Longstaff, 1993; Jansman, 1993). Jakost povezave je odvisna od lastnosti taninov in beljakovin, kot so molekulska masa, terciarna struktura, izoelektrična točka in združljivost (kompatibilnost) veznih mest (Reed, 1995; Lallès in Jansman, 1998).

Bennick (2002) navaja, da imajo tanini največjo afiniteto do beljakovin, ki predvsem vsebujejo aminokislino prolin, do polipeptidov ter do beljakovin, ki imajo konformacijo ali prostorsko strukturo odprto (Hagerman in sod., 1992), najmanjšo pa do majhnih globularnih beljakovin, kot je lizocim. Povezovanje taninov s prolinom obogatenimi beljakovinami lahko prepreči inaktivacijo preostalih metabolno aktivnih beljakovin. Močan vezalec tanina je tudi želatina, ki je beljakovinski proizvod delne hidrolize kolagena, pridobljenega iz kože, kosti, veziv in hrustanca. Prolin pri prašičih, ljudeh, podganah, miših, kuncih, hrčkih in srnjadi izločajo žleze slinavke (obušesna ali parotidna in objezična ali občeljstna oz. submandibularna žleza). Pri ljudeh je omenjena aminokislina prisotna še v solzah in respiratornem traktu (Jansman in Longstaff, 1993).

Mitaru in sod. (1984) so opazili, da imajo tanini večjo afiniteto do hidrofobičnih aminokislin.

Številni avtorji (Bennick, 2002; Hagerman in sod., 1992; Jansman, 1993; Mangan, 1988) so ugotovili, da precipitacija beljakovinsko taninskega kompleksa zavisi od pH vrednosti, in sicer je največja blizu izoelektrične točke beljakovine.

#### 2.2.1.2 Kompleksi z ogljikovimi hidrati

Tanini so znani tudi po interakcijah z ogljikovimi hidrati, a afiniteta do njih je precej manjša kot do beljakovin (Jansman in sod., 1993). Komplekse tvorijo predvsem s škrobom (Jansman, 1993), celulozo, hemicelulozo in pektinom (Mangan, 1988) s tvorjenjem vodikovih vezi preko prostih fenolnih hidroksilnih skupin taninov (Reed, 1995).

#### 2.2.2 Vpliv taninov na zauživanje krme

Jansman in Longstaff (1993) sta zaznala manjše zauživanje krme kot posledico vezave taninov na beljakovine v slini, kar je povzročilo izsušitev ustne sluznice in nezmožnost požiranja krme. Vendar so tanini pri prašičih zmanjšali konzumacijo le pri visoki vsebnosti polifenolov v krmnem obroku, saj so prašiči brez opaznejših sprememb, ki se niso kazale niti v razlikah v morfologiji črevesja (Van Leeuwen in sod., 1995), požrli 200 g luščin navadnega boba z visoko vsebnostjo taninov v kg krme. Tanini so namreč imeli zelo veliko afiniteto vezave s prolinom obogatenimi beljakovinami v slini, katere so onemogočile škodljive antinutritivne vplive taninov. Antinutritivne snovi so se nazadnje neaktivirane izločile z blatom.

Povečana izsušenost sluznice in s tem zmanjšana konzumacija krme pri živalih je posledica astringentnega delovanja taninov, ki se odraža tudi v trpkem okusu. Na površini ustne sluznice se namreč tvori tanek sloj netopnih denaturiranih beljakovin, s čimer postane sluznica manj občutljiva na škodljive vplive (Jansman, 1993; Štruklec, 2002; Mangan, 1988). Na okusnost krme vplivajo tanini tudi z neposredno vezavo na receptorje za okus (Jansman, 1993). Reed (1995) tudi navaja, da naredijo kondenzirani tanini krmo neokusno, saj je ugotovil, da so proantocianidini v metuljnicah odgovorni za zmanjšano konzumacijo le-teh.

### 2.2.3 Vpliv taninov na prebavljivost in izkoristljivost hranil

V literaturi je največkrat raziskani in tudi opaznejši vpliv taninov na prebavljivost beljakovin. Jansman (1993) navaja, da negativen učinek vezave taninov na beljakovine, ki se odraža v zmanjšani prebavljivosti beljakovin, nastopi zaradi zaviranja endogenih encimov ( $\alpha$ -amilaze, tripsina, lipaz) in povečanja endogenega izločanja beljakovin. Opisuje namreč potrditev predvidevanj, da se tanini zaradi tvorjenja kompleksov z beljakovinami vežejo tudi s prebavnimi encimi. Nastanek taninsko encimskih kompleksov vpliva na biološko aktivnost encimov kakor tudi posledično na zmanjšano prebavljivost beljakovin in aminokislin. Dodatek taninov v krmo namreč zmanjšuje aktivnost tripsina, himotripsina in  $\alpha$ -amilaze (Jansman, 1993). Tanini pa lahko po drugi strani povečajo izločanje encimov iz trebušne slinavke (Jansman in sod., 1995). V soku pankreasa se nahajajo predvsem tripsin, himotripsin,  $\alpha$ -amilaza in lipaza, ki povzročajo inhibicijo istih črevesnih encimov, a je afiniteta taninov za tripsin in  $\alpha$ -amilazo večja, kot za lipazo (Bennick, 2002; Longstaff in McNab, 1991a). Encimi pankreasa lahko zaradi tega motijo absorbcijo hranljivih snovi (Jansman in sod., 1995).

Tudi De Lange in sod. (2000) ter Mueller-Harvey (2006) so v krmi zabeležili povezavo polifenolnih spojin s prebavnimi encimi in črevesnimi mikroorganizmi poleg vezave taninov z beljakovinami, saj je bila posledično zmanjšana prebavljivost hranljivih snovi.

Fahey in Jung (1989, cit. po Jansman, 1993) povzemata, da obseg inhibicije prebavnih encimov pri tvorbi kompleksov s tanini zavisi od številnih dejavnikov, in sicer od razpoložljivosti beljakovin v krmi, tvorbe taninsko beljakovinskega kompleksa pred dejansko konzumacijo ter relativne količine prisotnih encimov, njihov vrstni red soočanja s tanini in afiniteta encimov do taninov.

Vpliv kondenziranih taninov na prebavljivost beljakovin so proučevali številni avtorji. Pri svojih raziskavah so predvsem proučevali prehranske učinke metuljnic, ki predstavljajo vir kondenziranih taninov. Jansman in sod. (1993, cit. po Van Leeuwen in sod., 1995) so pri pujskih, katerim so pokladali krmni obrok, ki je bil zasnovan na navadnem bobu (*Vicia faba* L.) ugotovili povečano endogeno izločanje dušika. Navadni bob je predstavljal beljakovinski nadomestek v prehrani živali, a njegova hranilna vrednost je bila omejena

zaradi prisotnosti kondenziranih taninov. Zmanjšana prebavljivost beljakovin in posledično povečane izgube z blatom izločenega dušika so namreč razložili s povečanim izločanjem slabo prebavljenih ponujenih taninsko beljakovinskih kompleksov. Vpliv kondenziranih taninov navadnega boba na navidezno prebavljivost beljakovin pa lahko pojasnimo z direktno povezavo omenjenih taninov s prehranskimi beljakovinami ali z zmanjšano aktivnostjo encimov, ki razgrajujejo beljakovine (Longstaff in McNab, 1991a) ali s povečano sekrecijo endogenih beljakovin-prebavnih encimov in mukoze oz. mukoznih celic (Jansman in sod., 1995; Mangan, 1988). Zmanjšano navidezno prebavljivost hranil zaradi učinkovanja kondenziranih taninov navajajo tudi Jansman in Longstaff (1993) ter Mitaru in sod. (1984), medtem ko je Reed (1995) ugotovil le manjšo absorpcijo esencialnih aminokislin (predvsem metionina) ob dodatku omenjenih taninov v krmni obrok.

Učinkovanje hidrolizirajočih taninov na prebavljivost beljakovin pa je predvsem raziskano z uporabo izvlečka iz kostanjevega lesa. Antongiovanni in sod. (2007) so pri prašičih, ki so zauživali popolno krmno mešanico z dodatkom taninov 5 g iz vodnega ekstrakta kostanjevega lesa na kg, ugotovili zmanjšano prebavljivost dušika.

Salobir in sod. (1997, 2005) so proučevali vpliv dodatka ekstrakta kostanjevega tanina (*Castanea sativa* Mill.) na aktivnost v krmo dodane fitaze in preostalih encimov v prebavnem traktu prašičev, ki so učinkovali na izkoristljivost hranljivih snovi krme. Rezultati raziskave so pokazali, da dodatek tanina v krmi zmanjšuje izkoristljivost beljakovin in nadalje zmanjša prebavljivost le-teh. Na delovanje eksogene fitaze pa taninski preparat ni učinkoval, kar je bilo razvidno po neizkoristljivosti mineralnih snovi, predvsem fosforja. Potemtakem so hidrolizirajoči tanini kostanja učinkovali le na endogene prebavne encime in ne na eksogene encime.

Med predstavniki skupine ogljikovih hidratov tanini še posebno reagirajo s škrobom. Longstaff in McNab (1991a, b) ter Yuste in sod. (1992) so pri krmljenju luščin navadnega boba piščancem namreč ugotovili zmanjšano prebavljivost škroba. Povezava taninov z ogljikovimi hidrati bi potemtakem lahko odločilno vplivala na prebavni proces, a bi bilo potrebno opraviti še več temeljnih raziskav (Jansman, 1993). Kos (2007), Sivka (2005) ter Sivka in Lavrenčič (2007b) pa so ugotovili, da je dodatek taninskih izvlečkov spremenil potek *in vitro* fermentacije škroba v vampnem soku. K substratu krompirjevega škroba so

dodajali tri taninske izvlečke, in sicer kostanjev tanin, kebračo tanin in taninsko kislino v sledečih koncentracijah: 0, 0,33, 0,67 in 1,33 mg/ml medija. Kostanjev tanin je bil dodan v obliki preparata Farmatan 75<sup>®</sup> (Tanin Sevnica, Slovenija) in je očitno zmanjšal *in vitro* produkcijo plina med anaerobno inkubacijo škroba v predželodcih kakor tudi zaviral hitrost fermentacije. Dodatek omenjenega izvlečka je torej podaljšal začetek razgradnje škroba. Vpliv tanina iz kostanjevega lesa na zmanjšanje skupne potencialne produkcije plina in največje hitrosti fermentacije ter na podaljševanje časovnega zaostanka začetka fermentacije in časa, v katerem je škrob najhitreje fermentiral je bil odvisen od koncentracije in je bil zatorej najbolj izražen pri največji koncentraciji (1,33 mg/ml medija). Enak ekstrakt kostanjevega tanina je bil uporabljen pri proučevanju vpliva le-tega na *in vitro* kinetiko fermentacijskih procesov celuloze (Kos 2007; Sivka, 2005; Sivka in Lavrenčič, 2007a). Substrat je v raziskavi predstavljala celuloza (BWW 40, J. Rettenmaier & Söhne, Nemčija), kateri so bile pred inkubacijo v inokulumu, pripravljenem iz vampnega soka, primešane različne koncentracije kostanjevega izvlečka, in sicer 0, 0,33, 0,67 in 1,33 mg/ml medija. Najvišja koncentracija dodanega ekstrakta je spremenila čas največje hitrosti fermentacije celuloze, saj se je hitrost razgradnje substrata upočasnila. Povzeli so, da lahko uporabljen rastlinski ekstrakt vpliva na obseg in hitrost *in vitro* fermentacije celuloze zaradi tvorbe kompleksov med tanini in substratom, ki niso podvrženi fermentaciji, in zmanjšanja aktivnosti mikroorganizmov in/ali mikrobnih encimov.

Vpliv taninov na prebavljivost maščob tudi še ni dokončno pojasnjen zaradi nezadostnega števila raziskav. Marquardt in sod. (1977) so pri piščancih ugotovili povečano prebavljivost maščob, medtem ko sta bili prebavljivost suhe snovi in surovih beljakovin zmanjšani pri krmljenju taninskega ekstrakta iz luščin navadnega boba. Longstaff in McNab (1991a) pa navajata, da visoka koncentracija omenjenih taninov zavira prebavljivost maščob ob zmanjšani aktivnosti lipaze pri piščancih, medtem ko v nadaljnjih raziskavah (1991b) nista opazila povečane prebavljivosti omenjene hranljive snovi ob povečani aktivnosti prebavnega encima lipaze pri krmljenju majhne koncentracije taninov iz luščin navadnega boba.

Vezava taninov na rudninske snovi in vitamine ima negativen vpliv na izkoristljivost omenjenih hranljivih snovi. Ugotovljeno je bilo, da prisotnost taninske kisline v krmi živali zmanjša absorpcijo vitamina A ali retinola in vitamina B<sub>12</sub> ali cianokobalamina (Jansman, 1993).

Prevelika zaužita količina taninov inhibira tudi absorpcijo kalcija, kar lahko privede do osteoporoze. Pri taninih je znana še vezava na kovinske ione, kot je železo. Tanini s kovinskimi ioni tvorijo t. i. kelatne komplekse, kar pomeni, da vezan ion ni več na razpolago. Omenjena reakcija je v primeru infekcije celo zaželeno, saj polifenoli vežejo železo, katerega bi mikroorganizmi potrebovali pri razmnoževanju. Drugače pa so tanini, razen proantocianidini, odgovorni za nizko biološko razpoložljivost železa, ki se nahaja predvsem v semenih metuljnic in posledično lahko privede do anemij (Bennick, 2002; Tanini, 2009).

V poskusu s 36 prašiči pitanci, ki so bili vhlevljeni v individualne bilančne kletke, pa so Salobir in sod. (1997, 2005) posredno preko preučevanja vpliva dodatka ekstrakta kostanjevega tanina na učinkovitost delovanja fitaze spremljali navidezno prebavljivost in izkoristljivost fosforja, kalcija, magnezija, cinka in mangana ter vsebnost določenih mineralnih snovi v krvi. Prašiči so bili ob vhlevitvi naključno razdeljeni v pet skupin. Skupinam živali so pokladali krmo, v katero so primešali različne količine tanina in fitaze (preglednica 1). Fitaza, merjena v fitaznih enotah-PU, je bila dodana v obliki preparata Natuphos (BASF, Nemčija). Tanin pa je bil dodan v obliki preparata Farmatan (Tanin Sevnica, Slovenija), ki je vseboval 55 % tanina iz kostanjevega lesa (*Castanea sativa* Mill.).

Preglednica 1: Poskusne skupine (Salobir in sod., 1997, 2005)

|                       | F-/T- | F+/T- | F+/T1 | F+/T2 | F+/T3 |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Število živali        | 7     | 8     | 7     | 7     | 7     |
| Kostanjev tanin, g/kg | 0     | 0     | 1,1   | 2,2   | 4,5   |
| Fitaza, PU/kg         | 0     | 550   | 550   | 550   | 550   |

Živali so bile krmljene restriktivno. Po končanem 7-dnevnem bilančnem poskusu so živalim iz vene jugularis odvzeli vzorce krvi za potrebe določitve koncentracije anorganskega fosforja (P), kalcija (Ca), kalija (K) in magnezija (Mg) v serumu.

Preglednica 2: Vpliv kostanjevega tanina in fitaze na prebavljivost in izkoristljivost P in Ca ter koncentracijo nekaterih mineralov v serumu (Salobir in sod., 1997, 2005)

|                            | F-/T-             | F+/T-              | F+/T1              | F+/T2             | F+/T3              | Povpr. SE-LSM |
|----------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------|
| <b>P</b>                   |                   |                    |                    |                   |                    |               |
| Navidezna prebavljivost, % | 28,8 <sup>a</sup> | 37,8 <sup>b</sup>  | 38,4 <sup>b</sup>  | 38,6 <sup>b</sup> | 34,8 <sup>ab</sup> | ±2,32         |
| Bilanca, g/dan             | 2,08 <sup>a</sup> | 2,77 <sup>b</sup>  | 2,79 <sup>b</sup>  | 2,86 <sup>b</sup> | 2,42 <sup>ab</sup> | ±0,19         |
| Izkoristljivost, %         | 27,6 <sup>a</sup> | 36,7 <sup>bc</sup> | 37,0 <sup>bc</sup> | 37,9 <sup>b</sup> | 32,1 <sup>c</sup>  | ±2,50         |
| <b>Ca</b>                  |                   |                    |                    |                   |                    |               |
| Navidezna prebavljivost, % | 25,7              | 29,4               | 31,3               | 28,2              | 24,8               | ±3,00         |
| Bilanca, g/dan             | 1,22 <sup>a</sup> | 3,11 <sup>b</sup>  | 3,40 <sup>b</sup>  | 3,16 <sup>b</sup> | 2,58 <sup>ab</sup> | ±0,47         |
| Izkoristljivost, %         | 9,2 <sup>a</sup>  | 21,8 <sup>b</sup>  | 23,5 <sup>b</sup>  | 22,1 <sup>b</sup> | 17,7 <sup>ab</sup> | ±3,20         |
| Anorganski P, mmol/l       | 2,12 <sup>a</sup> | 2,33 <sup>b</sup>  | 2,42 <sup>b</sup>  | 2,32 <sup>b</sup> | 2,27 <sup>ab</sup> | ±0,05         |
| Ca*, mmol/l                | 2,84              | 2,71               | 2,81               | 2,83              | 2,78               | ±0,05         |
| K, mmol/l                  | 5,31              | 5,97               | 5,36               | 5,38              | 4,88               | ±0,36         |
| Mg, mmol/l                 | 0,85              | 0,92               | 0,87               | 0,84              | 0,84               | ±0,04         |

Skupine, ki so označene z različnimi črkami se statistično značilno ( $P < 0,05$ ) razlikujejo med seboj  
 Povpr. SE-LSM = ocenjene srednje vrednosti skupin (LSM) ± povprečna standardna napaka (SE-LSM)  
 \* skupina F-/T- se značilno ( $P = 0,10$ ) razlikuje od F+/T-, skupina F+/T- pa od F+/T1 in F+/T2 ( $P < 0,05$ )

Prikazani rezultati (preglednica 2) so pokazali, da je dodana fitaza v krmo prašičev izboljšala navidezno prebavljivost, bilanco in izkoristljivost fosforja. Vzporedno z izboljšanjem izkoristljivosti fosforja so zabeležili veliko povečanje bilance (retencije) in izkoristljivosti kalcija. Na podlagi analiz seruma so predvideli, da do povečane retencije kalcija ni prišlo zaradi izboljšane oskrbe s kalcijem, temveč posredno zaradi izboljšanja oskrbe s fosforjem, saj znižana raven fosforja in povišana raven kalcija v krvi kažejo na pomanjkanje oz. visoko stopnjo mobilizacije fosforja iz kosti. Dodatek fitaze je namreč statistično značilno povečal koncentracijo fosforja v serumu, medtem ko se je koncentracija kalcija tendenčno zmanjšala ( $P = 0,10$ ). Vpliva fitaze na izkoristljivost magnezija, cinka in mangana pa niso opazili.

V bilančnem poskusu s pitovnimi piščanci je Špari Leben (2009) proučevala vpliv s tanini bogatega ekstrakta lesa pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) na izkoristljivost in bilanco surovega pepela, kalcija in fosforja. Živali so bile vhrlevljene v individualne bilančne kletke in po volji prejemale krmo z dodatkom kostanjevega tanina v



koncentracijah 0,7 in 2,0 g/kg. Omenjen ekstrakt je vseboval 75 % taninov in je bil dodan v obliki preparata Farmatan 75<sup>®</sup> (Tanin Sevnica, Slovenija). Rezultati raziskave so pokazali, da s tanini bogat uporabljen rastlinski ekstrakt ni vplival statistično značilno na izkoristljivost in bilanco proučevanih hranljivih snovi.

#### **2.2.4 Vpliv taninov na mikrofloro**

Tanini so del naravnega rastlinskega obrambnega sistema, ki omogoča zaščito pred nezaželenimi okoljskimi vplivi. Drugače povedano tanini zagotavljajo mikrobiološko zaščito oz. delujejo antimikrobno na različne bakterije, glive in plesni in zmanjšujejo okusnost krme, kar odganja možne predatorje rastlin (Bennick, 2002; Jansman, 1993; Komprej in sod., 2003; Mangan, 1988).

Tanini služijo v rastlinah torej kot naravni obrambni sistem proti mikrobnim okužbam. Potemtakem delujejo kot naravni regulatorji mikrobne populacije v različnih habitatih, vključno s prebavnim traktom. Tanini imajo različne mehanizme antimikrobnega delovanja, ki zaustavijo rast škodljivih mikroorganizmov v prebavilih. Lahko inhibirajo delovanje mikrobnih encimov, se vežejo na substratne molekule, da postanejo nedostopne za mikrobo ali pa delujejo neposredno na mikrobni metabolizem, tako da inhibirajo oksidativno fosforilacijo ali tvorijo komplekse s kovinskimi ioni (Reed, 1995).

Zadravec (2001) ter Jordanov in sod. (2001) navajajo, da tanka plast netopnih beljakovin, ki jo tvorijo tanini v stiku s črevesno sluznico, ščiti črevesno membrano pred škodljivimi fizikalnimi, kemijskimi in mikrobnimi vplivi, pomirja povečano gibanje črevesja ter preprečuje resorpcijo škodljivih snovi. Zatorej tanini delujejo tudi pri vnetih obolenjih prebavnega trakta.

Jordanov in sod. (2001) dodajajo, da se tanini priporočajo v veterinarski praksi kot preventiven ukrep pri gastrointestinalnih obolenjih. Pod pogoji intenzivne reje prašičev so živalim v krmo dodajali komercialni preparat Farmatan v koncentraciji 4 kg/t. Farmatan je vseboval 55 % kostanjevega tanina in živali so omenjeni krmni obrok prejemale 15 dni po odstavitvi. Po 30. dneh po odstavitvi so zabeležili dobro klinično stanje pri 75 % živali, povečano stabilnost ter zaviranje vnetja sluznice želodca in črevesja, ki ni nadalje vodilo v pojav driske.

### **2.2.5 Vpliv taninov na oksidacijski stres**

Tanine prištevamo tudi med prehranske oz. eksogene antioksidante, saj v pogojih oksidacijskega stresa uravnotežijo porušeno ravnovesje med prostimi radikali (prooksidanti) in antioksidanti. Pri porušenem ravnotežju se potrebe po antioksidantih namreč povečajo (Frankič in Salobir, 2007).

Zatorej rastlinski ekstrakti, bogati s polifenoli, predstavljajo potencialni vir naravnih antioksidantov, ki preprečujejo oksidacijski stres z lovljenjem prostih radikalov, s stimulacijo aktivnosti antioksidativnih encimov ali z vezavo prooksidativnih kovinskih ionov oz. imajo veliko možnost uporabe s stališča ohranjanja dobrega fiziološkega stanja živali. Posredno pa so proučevani polifenoli pokazali možnost za izboljšanje kakovosti živalskih proizvodov, saj je prehranska raziskava pokazala, da je pri mladih prašičih učinkovitost s tanini bogatega ekstrakta lesa sladkega kostanja primerljiva ali celo boljša kot vitamina E (Frankič, 2009). Na koncu 14-dnevnega poskusnega obdobja so živalim odvzeli vzorce krvi in kvantitativno zbirali seč 48 ur. Stopnjo oksidacijskega stresa so ovrednotili z meritvami koncentracije malondialdehida (MDA) v krvni plazmi, 24-h izločanja MDA in F<sub>2</sub>-izoprostanov (iPF<sub>2</sub>α-VI) s sečem, meritvami poškodb DNA mononuklearnih celic, 24-h izločanja 8-hidroksi-deoksigvanozina s sečem, skupnega antioksidacijskega statusa krvne plazme in koncentracijo glutation peroksidaze v eritrocitih. Ekstrakt iz kostanjevega lesa je pri koncentraciji 3,0 g/kg najbolj učinkovito zmanjšal lipidno peroksidacijo v organizmu, katero so izzvali s prekomernim vnosom n-3 PUFA (večkrat nenasičene maščobne kisline) v obliki lanenega olja v krmo. n-3 PUFA so bile namreč zaradi velikega števila dvojnih vezi in njihove pozicije zelo podvržene oksidaciji in v takšnih pogojih so lahko proučili antioksidativni vpliv ekstraktov iz kostanjevega lesa.

### **2.2.6 Vpliv taninov na proizvodne lastnosti**

Kljub temu, da tanini spadajo med antinutritivne snovi, saj zmanjšujejo razpoložljivost preostalih hranljivih snovi in hranilno vrednost krme (Lavrenčič in Levart, 2004), imajo lahko pozitiven učinek na proizvodne lastnosti. Jordanov in sod. (2001) so opazili ugoden vpliv dodatka vodnega ekstrakta kostanjevega lesa na proizvodne parametre v času odstavitve in pitanja prašičev. Dodatek h krmi živali v obliki preparata Farmatan, ki je

vseboval 55 % kostanjevega tanina, je namreč neposredno po odstititvi znatno zmanjšal poodstavitveno izgubo telesne mase. Povečanje dnevnega prirasta in izboljšana konverzija sta bila opazna tudi pri dodajanju Farmatan ACID-a (acidifikanta), ki je bil sestavljen iz 65 % tanina iz lesa pravega kostanja (Zadravec, 2001).

Mueller-Harvey (2006) tudi povzema, da so v sodobni živinoreji tanini postali pomemben dodatek, saj se hidrolizirajoči tanini pogosto uporabljajo kot preprečevalci drisk in zatorej s svojim ugodnim delovanjem vplivajo na izboljšanje proizvodnih rezultatov pri živalih, kot sta že omenjena prirast in konverzija krme. Mueller-Harvey (2006) pa je še zabeležila, da dodatek elagitaninov v ekstraktu pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) poveča telesno maso in mlečnost.

Po drugi strani lahko tanini vplivajo tudi negativno na proizvodne lastnosti. Prehranska raziskava, ki so jo Antongiovanni in sod. (2007) opravili na rastočih prašičih, je pokazala namreč slabšo izkoristljivost krme in posledično manjše priraste. Prašiči so v 40-dnevem prehranskem poskusu zauživali 0,50 % taninov iz vodnega ekstrakta kostanjevega lesa. Zmanjšano konverzijo in slabše priraste sta zabeležila tudi Lavrenčič in Levart (2004). Zaostanek v rasti kot posledico neokusnosti metuljnic, v katerih prevladujejo proantocianidini ali kondenzirani tanini, pa navaja Reed (1995).

### **2.2.7 Tanini kot silirni dodatki**

Tanini so opredeljeni tudi kot silirni dodatki. Namen uporabe taninov pri postopkih siliranja je predvsem zaščita beljakovin rastlinskega izvora pred njihovo hidrolizo oz. proteolizo med fermentacijo silaž in inhibicija nezaželenih mikroorganizmov, ki zmanjšujejo kakovost silaž. Opisane učinke se da doseči z dodatkom formaldehida in mravljične kisline, a je njuna uporaba škodljiva z zdravstvenega vidika živali in ljudi. Uporaba in rokovanje s tanini, kot silirnimi dodatki, pa je v nasprotnem primeru varna in ne ogroža zdravja ljudi in živali (Lavrenčič in Levart, 2004).

Strmčnik (2007) je proučevala vpliv izvlečka iz kostanjevega lesa na kemično sestavo travne silaže v treh časovno ločenih poskusih. Taninski izvleček je bil dodan v obliki preparata Farmatan 75<sup>®</sup> (Tanin Sevnica, Slovenija). V prvem poskusu so oveneli travi dodali 3, 7, 11 ali 15 g kostanjevega izvlečka na kg silažne mase. V drugem poskusu so

ravno tako silirani oveneli travi dodali enake odmerke rastlinskega izvlečka, a z ozirom na vsebnost surovih beljakovin v silirni masi. Poleg tanina so oveli travi dodali še 5 g sladkorja/kg silirne mase. V tretjem poskusu pa so sveži travi dodali 3, 15 in 30 g izvlečka iz kostanjevega lesa na kg. Po 90. dneh siliranja so v silaži preučili vsebnost suhe snovi (SS), surovega pepela (SP), surovih beljakovin (SB), surove vlaknine (SV), surovih maščob (SM), brezdušičnega izvlečka (BDI) in vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu (NDV) ter vsebnost topnega dušika, dušika v čistih beljakovinah in dušika iz amoniaka. V vzorcih silaže so določili tudi vsebnost mlečne, očetne, propionske in maslene kisline. Rezultati analize so pokazali, da povečanje koncentracije kostanjevega ekstrakta ni imelo nobenega statistično značilnega vpliva na vsebnost suhe snovi silaže. Večja koncentracija kostanjevih taninov pa je vplivala na zmanjšane vsebnosti SB, SM in SV ter povečane vsebnosti BDI in NDV. S povečevanjem količine dodanega izvlečka iz kostanjevega lesa se je vsebnost dušika v čistih beljakovinah povečala, medtem ko sta se vsebnost topnega dušika in dušik iz amoniaka zmanjševala. Vsebnost mlečne kisline se je s povečevanjem koncentracije izvlečka iz kostanjevega lesa kot silirnega dodatka zmanjševala, medtem ko koncentracija taninov ni imela statistično značilnega vpliva na vsebnosti očetne, propionske in maslene kisline. Vsi vzorci so imeli takšno pH vrednost, ki je zagotavljala njihovo stabilnost. Razlike v kemični sestavi so bile večje v silaži, pripravljene iz sveže trave.

Opisan prvi in drugi poskus v raziskavi Strmčnik (2007) sta na isti način opravila tudi Lavrenčič in Levart (2004) ter zabeležila ista opažanja. Ugotovila sta še, da tanini nimajo vpliva na vsebnost amoniaka. Ker sta bila poskusa izvedena v optimalnih razmerah glede ovelosti silirne mase, sta bila še mnenja, da bi v manj optimalnih razmerah dodatek taninov lahko še dodatno zaščitil silažo pred kvarjenjem oz. sekundarnim vrenjem in pred pretirano razgradnjo beljakovin med siliranjem, kar sta potrdila v nadaljnjih raziskavah (Lavrenčič in Levart, 2006).

Lavrenčič in Levart (2006) sta prišla do istih že opisanih dognanj pri tretiranju sveže trave z ekstraktom kostanjevega tanina (Farmatan 75<sup>®</sup>, Tanin Sevnica, Slovenija) v koncentraciji 0, 3, 15 in 30 g izvlečka na kg silirne mase. Zmanjšana vsebnost topnega dušika in povečana vsebnost dušika v čistih beljakovinah narekujeta, da je bila proteoliza v silaži

zavirana, kar je bila verjetno tudi posledica tvorjenja kompleksov med tanini in beljakovinami. Razgradnja omenjenih kompleksov pa je nadalje v vampu manjša, kar zagotavlja boljšo oskrbo prežvekovalcev z aminokislinami in posledično vpliva na njihove boljše proizvodne lastnosti.

### 2.3 MOŽNOSTI OMEJEVANJA DELOVANJA TANINOV

Za preprečitev škodljivih vplivov taninov bi se bilo potrebno po dognanjih Jansman in Longstaff (1993) osredotočiti na spojine, ki zmanjšujejo biološko aktivnost taninov oz. na agente, ki vežejo tanine in preprečujejo njihove antinutritivne vplive na produktivnost živali. Kemikalije, ki zmanjšajo prehranske učinke taninov so želatina, polivinilpirolidon (PVP) in polietilen glikol (PEG). Yu in sod. (1996) so z dodatkom PEG v krmo pujskov in podgan, ki je temeljila na bombažnih semenih, dosegli povečano navidezno prebavljivost dušika in nekaterih aminokislin (glicin, izolevcin, serin, levcin, treonin, valin, alanin, tirozin, asparaginska in glutaminska kislina). PEG namreč močno veže kondenzirane tanine v taninsko beljakovinske komplekse in tako sprošča beljakovine ter pri tem ne spremeni sestavo hranljivih snovi v obroku.

Van der Poel in sod. (1992) pa so v raziskavi prikazali pozitiven vpliv na prebavljivost z odstranitvijo kondenziranih taninov v navadnem bobu (*Vicia faba* L.), katero so dosegli s pomočjo selekcije, medtem ko so Mitaru in sod. (1984) deaktivacijo taninov v sirku dosegli z navlažitvijo le-tega.

### 2.4 MERJENJE PREBAVLJIVOSTI

Po zaužitju so hranljive snovi krme v prebavilih živali podvržene procesu prebave. Del hranil se prebavi oz. razgradi do enostavnih molekul in nadalje absorbira v kri, preostali neprebavljen in neabsorbirani del hranljivih snovi pa se izloči z blatom. Razlika med količino hranil v krmi in količino izločenih snovi v blatu ponazarja količino prebavljenih hranljivih snovi. Prebavljivost torej ponazarja del hranil krme, ki se v prebavilih živali prebavi in resorbira oziroma prebavljivost poda oceno kakovosti ali hranilno vrednost določene krme. Kemična analiza krme namreč ni zadostna za podajo ocene njene hranilne

vrednosti, saj le-ta zavisi od prebavljivosti hranil, ki sestavljajo krmo (Orešnik in Kermauner, 2000).

#### **2.4.1 Navidezna in prava prebavljivost**

Razlikujemo med navidezno in pravo prebavljivostjo. Navidezna prebavljivost predstavlja razliko med zaužitimi in z blatom izločenimi hranili krme. A blato vsebuje tudi snovi, ki so posredno povezane z zaužitimi hranljivimi snovmi. Gre za presnovne produkte, izločene preko debelega črevesja, odmrle črevesne celice in levkocite. Omenjenim snovem pravimo endogeni del blata. Pravo prebavljivost pa podajamo z razmerjem med absorbirano količino hranil in zaužito količino hranljivih snovi (Orešnik in Kermauner, 2000):

- navidezna prebavljivost =  $(\text{zaužita količina hranljivih snovi} - \text{z blatom izločena količina hranljivih snovi}) / \text{zaužita količina hranljivih snovi}$
- prava prebavljivost =  $((\text{zaužita količina hranljivih snovi} - (\text{z blatom izločena količina hranljivih snovi} - \text{količina endogenih snovi})) / \text{zaužita količina hranljivih snovi}) * 100 = (\text{absorbirana količina hranil} / \text{zaužita količina hranljivih snovi}) * 100$

#### **2.4.2 Vplivi na prebavljivost**

Prebavljivost določene krme oziroma njenih hranljivih snovi zavisi od kemične strukture krme, posamezne živalske vrste, količine zaužite krme in sestave obroka (Orešnik in Kermauner, 2000):

- Kemična struktura krme

V določeni krmi so hranljive snovi različno prebavljive in poznano je medsebojno učinkovanje hranil na prebavljivost. Enostavni ogljikovi hidrati ali lahko topni brezdušični izvleček so dobro prebavljivi kakor tudi surove beljakovine in surove maščobe. Zelo različna je prebavljivost rudninskih snovi, od zelo dobre do zelo slabe. Surova vlaknina pa je najslabše prebavljiva. Organizem živali jo lahko razgradi le s pomočjo mikroorganizmov, ki se nahajajo v prebavnem traktu (Orešnik in Kermauner, 2000).

➤ Živalska vrsta

Živalska vrsta najbolj vpliva na prebavljivost surove vlaknine. Pri prašičih se surova vlaknina v želodcu in tankem črevesju sploh ne prebavlja, le v debelem črevesju se delno prebavi pod pogojem, da je prisotna dalj časa. Pri prežvekovalcih pa je prebava v predželodcih usmerjena na surovo vlaknino. Razlike so odvisne od encimov, ki jih proizvajajo mikroorganizmi in ne od lastnih encimov. Potemtakem so razlike v prebavljivosti surove vlaknine med živalskimi vrstami prisotne zaradi različnih pogojev, ki nastajajo v prebavilih. Količina zaužite surove vlaknine spreminja tudi prebavljivost vseh drugih hranil in ne samo prebavljivost same surove vlaknine, saj so rastlinske celične stene pretežno zgrajene iz surove vlaknine. Celična vsebina se lahko torej prebavi šele po razgradnji ogrodja celice, ki je predvsem sestavljen iz surove vlaknine. Z večanjem količine zaužite surove vlaknine v obroku pa se zmanjšuje prebavljivost organske snovi, a učinek surove vlaknine na prebavljivost je večji pri prašičih v primerjavi s prežvekovalci (Orešnik in Kermauner, 2000).

➤ Količina zaužite krme

Pri prašičih ni bil zaznan vpliv količine krme na prebavljivost, medtem ko so pri govedu odkrili visoko stopnjo povezanosti med prebavljivostjo in količino konzumirane krme. Pri večji konzumaciji predvsem beljakovin in maščob se prebavljivost poslabša, kar je posledica hitrejšega prehoda hranil skozi prebavni trakt (Orešnik in Kermauner, 2000).

➤ Sestava obroka

Vsako krmilo vpliva na prebavljivost posameznih hranljivih snovi kakor tudi na prebavljivost preostalih krmil v krmnem obroku živali. Vplivi so zanemarljivi pri živalih s pretežno encimatsko prebavo, medtem ko so zelo močni pri prežvekovalcih, saj sestava obroka vpliva na rast in razvoj mikroorganizmov v predželodcih (Orešnik in Kermauner, 2000).

### 3 MATERIAL IN METODE

V prehransko raziskavo, ki je bila izvedena v poskusnem hlevu Farme Ihan d.d., je bilo vključenih 32 tekačev s povprečno telesno maso 10,93 kg. Prašiče smo tehtali na začetku in koncu poskusa.

Prašiči so bili individualno vhlevljeni v bilančne kletke, ki omogočajo ločeno zbiranje blata in seča. Po obdobju prilagajanja (5 dni), smo živali naključno razdelili v 4 skupine po 8 živali, ki so bile v nadaljnjem 5-dnevnem bilančnem obdobju krmljene s sledečo poskusno krmo:

- Kont – krma brez dodatka ekstrakta kostanjevega lesa
- KoEx-0,75 – Kont + dodatek 0,75 g ekstrakta kostanjevega lesa na kg
- KoEx-1,5 – Kont + dodatek 1,5 g ekstrakta kostanjevega lesa na kg
- KoEx-3,0 – Kont + dodatek 3,0 g ekstrakta kostanjevega lesa na kg

Zagotavljanje popolnega zaužitja krmnih obrokov smo dosegli z restriktivnim krmljenjem na ravni 2,5-kratnih vzdrževalnih potreb po energiji (NRC, 1998).

Tekom 5-dnevnega bilančnega obdobja smo blato in seč zbirali vsakodnevno. Pred pričetkom bilančnega obdobja smo kletke in posodo za zbiranje temeljito oprali. Seč smo zbirali v posode ob prisotnosti 18 % HCl, s katero smo znižali pH vrednost seča pod 4. S tem smo preprečili izhajanje dušika med zbiranjem. Pri vsakem prašiču smo izmerili volumen izločenega seča in seč prefiltrirali skozi filter papir (Schleicher & Schuell 520 A, Nemčija) ter odvzeli vzorec (10 % od celotne izločene količine), ki smo ga takoj zamrznili pri -20°C. Celotno količino blata smo stekali in takoj zamrznili pri -20°C. Individualna vhlevitev je poleg vsakodnevne kontrole izločanja blata in seča omogočala še kontrolo zauživanja krme, kar je skupaj z opazovanjem obnašanja in rednim tehtanjem pomagalo predvideti ali je zdravstveno stanje živali v poskusu normalno.



### 3.1 SESTAVA OSNOVNE KRMNE MEŠANICE IN OBROKOV

Prašiči v različnih poskusnih skupinah so enkrat dnevno dobivali izoenergijske obroke, ki so zagotovili 2,5-kratno kritje vzdrževalnih potreb po energiji ( $ME_m$  – Metabolic Energy for Maintenance), izračunanih po NRC (1998):  $ME_m = 459,8 \text{ KJ} * \text{masa}^{0,75}$ . Krmne mešanice vseh poskusnih skupin so bile sestavljene iz pšeničnega škroba, koruze, sojinih tropin, posnetega mleka v prahu, pšeničnih otrobov, olja oljne ogrščice, mineralno-vitaminskega dodatka, premiksa in dodatka lanenega olja (preglednica 3 in 4).

Preglednica 3: Sestava in kemijska analiza krmnih mešanic za rastoče prašiče

|  | Kont   | KoEx-0,75 | KoEx-1,5 | KoEx-3,0 |
|--|--------|-----------|----------|----------|
| <b>Sestava osnovne krmne mešanice</b>  |        |           |          |          |
| Nativni pšenični škrob (g/kg)          | 215,44 | 214,69    | 213,94   | 212,44   |
| Koruzna (g/kg)                         | 131,43 | 131,43    | 131,43   | 131,43   |
| Sojine tropine (g/kg)                  | 258,40 | 258,40    | 258,40   | 258,40   |
| Posneto mleko v prahu (g/kg)           | 200,25 | 200,25    | 200,25   | 200,25   |
| Pšenični otrobi (g/kg)                 | 54,94  | 54,94     | 54,94    | 54,94    |
| Olje oljne ogrščice (g/kg)             | 22,17  | 22,17     | 22,17    | 22,17    |
| Sol (g/kg)                             | 0,82   | 0,82      | 0,82     | 0,82     |
| Ruekana (g/kg)                         | 4,21   | 4,21      | 4,21     | 4,21     |
| Apnenec (g/kg)                         | 9,53   | 9,53      | 9,53     | 9,53     |
| L-lizin-HCl (g/kg) <sup>1</sup>        | 0,07   | 0,07      | 0,07     | 0,07     |
| DL-metionin (g/kg) <sup>2</sup>        | 1,59   | 1,59      | 1,59     | 1,59     |
| Premiks (g/kg)                         | 5,56   | 5,56      | 5,56     | 5,56     |
| Laneno olje (g/kg)                     | 95,57  | 95,57     | 95,57    | 95,57    |
| Farmatan (g/kg)                        | 0      | 0,75      | 1,5      | 3,0      |
| <b>Kemijska analiza krmne mešanice</b> |        |           |          |          |
| Suha snov (g/kg)                       | 904,98 | 904,98    | 903,09   | 905,26   |
| Surove beljakovine (g/kg)              | 195,66 | 195,66    | 200,58   | 202,3    |
| Surove maščobe (g/kg)                  | 89,79  | 89,79     | 86,31    | 84,63    |
| Surova vlaknina (g/kg)                 | 33,03  | 33,03     | 31,98    | 32,65    |
| Surovi pepel (g/kg)                    | 51,24  | 51,24     | 49,66    | 50,66    |
| BNI (g/kg)                             | 535,25 | 535,25    | 534,55   | 535,01   |
| Fe (mg/kg)                             | 270,8  | 270,80    | 300,1    | 273,9    |
| Ca (g/kg)                              | 9,16   | 9,16      | 9,29     | 9,49     |
| P (g/kg)                               | 5,62   | 5,62      | 5,49     | 5,52     |

<sup>1</sup>L-lizin-HCl je vseboval 78,8 % L-lizina

<sup>2</sup>DL-metionin je vseboval 98 % DL-metionina

Preglednica 4: Sestava premiksa za rastoče prašiče

|                         | Vsebnost na kg premiksa |
|-------------------------|-------------------------|
| Cu                      | 33.000,00 mg            |
| I                       | 200,00 mg               |
| Fe                      | 30.000,00 mg            |
| Mn                      | 9.000,00 mg             |
| Se                      | 40,00 mg                |
| Zn                      | 18.000,00 mg            |
| Co                      | 100,00 mg               |
| Vitamin A               | 400.000,00 IU           |
| Beta-karoten            | 0,00 mg                 |
| Vitamin D               | 280.000,00 IU           |
| Vitamin E               | 2.600,00 IU             |
| Vitamin K               | 1.060,00 mg             |
| Vitamin C               | 0,00 mg                 |
| Biotin-H, B7            | 50,00 mg                |
| Holin                   | 70.000,00 mg            |
| Folna kislina, B9       | 300,00 mg               |
| Niacin, B3              | 9.000,00 mg             |
| Pantotenska kislina, B5 | 5.000,00 mg             |
| Riboflavin, B2          | 1.500,00 mg             |
| Tiamin, B1              | 800,00 mg               |
| Piridoksin, B6          | 1.200,00 mg             |
| Cianokobalamin, B12     | 8.000,00 µg             |

Različne odmerke ekstrakta kostanjevega lesa (KoEx) smo vmešali v krmno mešanico, iz katere so izpodrinili pšenični škrob. Laneno olje smo dodajali poskusnim skupinam neposredno pred krmljenjem. Laneno olje je bilo shranjeno na -20 °C in smo ga odtalili en dan pred krmljenjem. Od talitve do krmljenja pa je bilo shranjeno na temnem pri +4 °C v hladilniku.

### 3.2 SESTAVA VODNEGA EKSTRAKTA IZ KOSTANJEVEGA LESA

S hidrolizirajočimi tanini bogat vodni ekstrakt iz kostanjevega lesa (KoEx) smo dobili od podjetja Tanin Sevnica d.d. kot komercialni krmni dodatek Farmatan 75<sup>TM</sup>, ki vsebuje 75 % hidrolizirajočih taninov, 15 % enostavnih sladkorjev, vezano vodo in minerale (preglednica 5). Med tanini prevladujejo veskalagin in kastalagin, njuna metabolita veskalin in kastalin ter roburini, elagna in galna kislina (Frankič, 2009).

Preglednica 5: Kemijska sestava ekstrakta kostanjevega lesa – Farmatan 75<sup>TM</sup>

| Parametri                     | Enota | Metoda                 | Vrednost   |
|-------------------------------|-------|------------------------|------------|
| Aktivna komponenta - Tanin    | %     | Filter metoda Freiberg | 73 ± 2     |
| Ogljikovi hidrati (sladkorji) | %     | Filter metoda Freiberg | 18 ± 2     |
| Netopno                       | %     | Filter metoda Freiberg | do 2       |
| Voda                          | %     | Filter metoda Freiberg | 6 ± 2      |
| pH (10 % raztopine)           |       |                        | 3,3 ± 0,25 |

KoEx je svetlo rjav amorfen prah, grenkega okusa in kiselkastega vonja. Velikost delcev je 50 - 850 µm (Rodis/Gradis disperzni sistem). Ekstrakt je notificiran (Pravilnik o krmnih dodatkih, 2003) do leta 2010 kot tehnološki dodatek (1k - silirni dodatek) in senzorični dodatek (2b - aromatične snovi).

### 3.3 DELO V KEMIJSKEM LABORATORIJU

Analizo blata in seča smo opravili v kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete. S postopki Weendske analize smo v blatu določili vsebnost surovih maščob in surovih beljakovin, s plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo vsebnost kalcija in železa, vsebnost fosforja pa smo določili s spektrofotometrično metodo. V seču smo določili le vsebnost surovih beljakovin po Kjeldahlu, kalcij in železo pa s plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo.

#### ➤ Priprava laboratorijskega vzorca

Vzorke seča smo čez noč odtajali pri sobni temperaturi, medtem ko smo vzorce blata predhodno liofilizirali ter nato homogenizirali z mletjem. Vse določitve smo izvedli v dveh ponovitvah.

#### ➤ Suha snov

Z liofiliziranjem iz vzorcev blata nismo odstranili vlage v celoti, zato predhodno ali delno sušenje ne pomeni suhe snovi v vzorcu, ampak le t.i. zračno suho snov. Delno (zračno) suhe vzorce smo zmleli do primerne velikosti delcev in analizirali s postopkom določanja suhe snovi s sušenjem pri 103-105°C. Očiščene in prežarjene porcelanaste lončke smo najprej stehali na analitski tehtnici in nato vanje dali približno 2 g vzorca in ponovno stehali na analitski tehtnici. Potem smo vzorce v lončkih prenesli v sušilno peč, kjer smo

vzorci sušili 3 ure oziroma do konstantne mase. Nazadnje smo vzorce v lončkih ohladili v eksikatorju in ponovno stehali.

➤ Surovi pepel

Predhodno posušene vzorce blata v žarilnih lončkih smo prenesli v segreto žarilno peč in jih sežgali pri temperaturi 520-550 °C. Sežig je bil končan, ko smo dobili bel do svetlo siv pepel, ki ni vseboval delcev oglja. Porcelanaste lončke smo po sežigu prenesli v eksikator, kjer smo jih ohladili. Ohlajen pepel in lončke smo potem stehali na analitski tehtnici.

➤ Priprava solnokislinskega izvlečka pepela

Po žarjenju vzorca pri 550 °C smo pepel v lončku omočili z vodo in dodali toliko 25 % HCl, da se je pepel raztopil. Raztopino v lončku na peščeni kopeli smo izparili skoraj do suhega, ponovno dodali 3 ml 25% HCl, dolili 2-5 ml deionizirane vode, na peščeni kopeli malo segreli in vroče prefiltrirali skozi filter papir z oznako črn trak (Schleicher & Schuell 589, ashless, Nemčija) v 100 ml merilno bučko. Žarilni lonček in filtrirni papir smo nekajkrat sprali z vročo deionizirano vodo, da smo izprali pepel.

Ko se je raztopina v merilni bučki nekoliko ohladila, smo jo s hladno deionizirano vodo razredčili do oznake in nato dobro premešali.

➤ Razklop seča v mikrovalovni pečici

Seč smo razklopili v mikrovalovni pečici (ETHOS PLUS, Milestone) tako, da smo v teflonski reaktor zatehtali približno 3,5 g vzorca (na 0,1 mg natančno) in v reaktor dodali 7 ml 65 % HNO<sub>3</sub> in 2 ml 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Nato smo reaktorje vstavili v visokotlačni rotor instrumenta. Zmes smo razklapljali pri 200 °C 30 minut, nato smo rotor ohladili in razstavili. Razklopljen vzorec smo kvantitativno prenesli v 25 ml merilno bučko in razredčili do oznake.

➤ Določitev fosforja (P)

Vsebnost P v izločkih smo določili v solnokislinskem izvlečku, katerega smo pripravili iz surovega pepela. Solnokislinske izvlečke smo za določitev P v blatu razredčili v razmerju

0,2:10. P smo določili s spektrofotometrično metodo, ki temelji na merjenju absorbance obarvane spojine, ki nastane pri reakciji med P in vanadatnomolibdatnim reagentom. Absorbance nastale spojine smo merili pri 430 nm.

➤ Določitev kalcija (Ca) in železa (Fe)

V vzorcih izločkov smo vsebnost Ca in Fe določili z uporabo plamenske absorpcijske spektrometrije. Za določitev vsebnosti Ca in Fe v blatu smo potrebovali solnokislinske izvlečke iz surovega pepela, katere smo nadalje redčili v razmerju 0,1:10 za določitev Ca, za določitev Fe pa v razmerju 1:10. Raztopine vzorcev seča smo po razklopu v mikrovalovni pečici ETHOS PLUS proizvajalca Milestone redčili v razmerju 0,4:10 pri določevanju Ca, medtem ko za določitev Fe vzorcev nismo predhodno redčili. Koncentracijo Ca smo v razklopljenih vzorcih določili z merjenjem absorpcije monokromatske svetlobe po razprševanju posameznih vzorcev v plamen acetilen-zrak pri 422,7 nm, koncentracijo Fe pa pri 248,3 nm.

➤ Surove beljakovine (SB)

Vsebnosti surovih beljakovin v vzorcih blata in seča pujskov smo določili po Kjeldahlu. Večina beljakovin vsebuje približno enak odstotek dušika (N), in sicer 16 %. Izmerjeno vsebnost dušika v vzorcih smo zatorej pomnožili s faktorjem 6,25 in tako izračunali vsebnost surovih beljakovin v omenjenih vzorcih. Kjeldahlova metoda za določevanje dušika je sestavljena iz treh osnovnih korakov:

- 1) Razklop vzorca v žveplovi (VI) kislini ob prisotnosti katalizatorja (organsko vezan dušik se spremeni v amoniak).
- 2) Destiliranja amoniaka v primerno raztopino.
- 3) Določitev množine predestiliranega amoniaka s titracijo.

Sprva smo na analitski tehtnici zatehtali vzorec in ga prenesli v Kjeldahlovo epruveto, v katero smo dodali še 1 žlico bakrovega sulfata in kalijevega sulfata ter  $2 \times 6$  ml 96 %  $H_2SO_4$ . Pripravljeno zmes smo nato dobro zmešali. Ob tem smo pripravili tudi slepi vzorec in sicer smo v epruveto za razklop dali vse reagente brez vzorca. Epruvete smo nato namestili v blok za segrevanje v digestoriju, opremljenem z absorberjem za pline, kateri so nastajali pri oksidativnem razklopu. Pri razklopu so se namreč v ozračje sproščali

korozivni in za dihalne poti zelo nevarni žveplovi in deloma dušikovi oksidi. Ko je bil razklop končan, smo raztopine ohladili in previdno razredčili z destilirano vodo. Potem smo amoniak iz kisle raztopine oddestilirali s pomočjo destilacijske enote z vodno paro. Najprej smo razklopljene vzorce blata in seča dodali 40 % vodno raztopino NaOH, nato pa pričeli z destiliranjem, ki je trajalo 3 minute. Destilat smo lovili v Erlenmajerjeve steklenice, v katere smo dodali 60 ml 2 % vodne raztopine  $H_3BO_3$ . Nadalje smo posamezno erlenmajerico prestavili v titracijski aparat, kjer se je destilatu dodajala 0,05 M standardna raztopina  $H_2SO_4$  do vrednosti pH 4,65. Na koncu titracije smo zabeležili le še volumen porabljene kisline.

➤ Surove maščobe (SM)

Surove maščobe smo določili z ekstrakcijo z organskim topilom petroletrom v Soxhletovem aparatu. Na analitski tehtnici smo najprej stehali prazne destilirne bučke z vrelnimi kroglicami. Potem smo v ekstrakcijske tulce iz nemastnega papirja zatehtali vzorce, jih pokrili z vato in namestili v Soxhletov aparat. V destilirne bučke pa smo nalili petroleter do približno 1/3 višine bučke in jih vstavili v omenjen aparat nad električne grelce. Po 30 minutah ekstrakcije v petroletru smo dvignili ekstrakcijske tulce iz organskega topila in vzorce ekstrahirali še 30 minut s čistim topilom. Po končani ekstrakciji smo z rotavaporjem, v katerem je bila temperatura okoli 75 °C, odparili topilo. Nato smo bučke z ekstraktom sušili še 1 uro pri 98 °C, ohladili v eksikatorju in stehali.

### 3.4 OBDELAVA PODATKOV

V programu Microsoft Office Excel smo izračunali posamezne parametre z uporabo spodnjih enačb:

➤ zaužito (g) = (vsebnost posamezne hranilne snovi v krmi (g/kg) \* količina zaužite krme (g)) / 1000

➤ izločeno z blatom (g) = (vsebnost posamezne hranilne snovi v blatu (g/kg) \* količina blata (g)) / 1000

- izločeno s sečem (g) = (vsebnost posamezne hranilne snovi v seču (g/kg) \* količina seča (g)) / 1000
- bilanca (g) = zaužito (g) – (izločeno z blatom (g) + izločeno s sečem (g))
- prebavljivost (%) = ((zaužito (g) – izločeno z blatom (g)) / zaužito (g)) \* 100
- izkoristljivost (%) = (bilanca (g) / zaužito (g)) \* 100

Podatke posameznih parametrov smo statistično obdelali s statističnim paketom SAS/STAT. Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS, s proceduro UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve. Za analizo podatkov s statističnim modelom smo uporabili proceduro GLM (General Linear Model). Razlike med skupinami smo iz vrednotili s pomočjo linearnih kontrastov in Tukey testa.

V statistični model smo vključili sistematski vpliv poskusne skupine in z njim statistično obdelali podatke o prebavljivosti, izkoristljivosti in bilanci proučevanih hranljivih snovi:

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij}$$

$y_{ij}$  = opazovana lastnost

$S_i$  = vpliv i-te poskusne skupine;  $i = 1, 2, 3, 4$

$e_{ij}$  = ostanek

Rezultati v nadaljnjih preglednicah so podani kot srednje vrednosti po metodi najmanjših kvadratov - least square means (LS-means). Kot parameter disperzije med srednjimi vrednostmi skupin je podana SEM (standard error of means) in kot merilo značilnosti P-vrednost. Razlike so bile značilne pri  $P < 0,05$ .

## 4 REZULTATI

Poskus je potekal brez posebnosti. Med trajanjem poskusa nismo zabeležili pogina ali zdravstvenih težav živali. Zaradi restriktivnega načina krmljenja so vsi prašiči vedno zaužili vso ponujeno krmo. Med poskusnimi skupinami ni bilo statistično značilnih razlik v telesni masi na začetku in koncu poskusa (preglednica 6).

Preglednica 6: Povprečna telesna masa prašičev na začetku in koncu poskusa ter prirast v poskusnem obdobju

| Poskusna skupina  | Kont  | KoEx-<br>0,75 | KoEx-<br>1,5 | KoEx-<br>3,0 | SEM   | P-vrednost |
|-------------------|-------|---------------|--------------|--------------|-------|------------|
| Začetna masa (kg) | 10,95 | 10,91         | 10,97        | 10,91        | 0,083 | 0,9924     |
| Končna masa (kg)  | 15,26 | 15,33         | 15,54        | 15,42        | 0,140 | 0,9161     |
| Prirast (kg)      | 4,31  | 4,42          | 4,57         | 4,52         | 0,077 | 0,6813     |

Rezultati, prikazani v preglednici 7, potrjujejo znano dejstvo, da tanini v krmi povečujejo izločanje beljakovin z blatom in zmanjšujejo prebavljivost beljakovin, a glede na našo raziskavo šele pri dodatku 3,0 g ekstrakta kostanjevega lesa na kg. Pri omenjeni koncentraciji kostanjevega tanina je torej izločanje beljakovin večje, kar se kaže tudi v tendenčno slabši izkoristljivosti beljakovin. Razlike med poskusnimi skupinami glede prebavljivosti surovih beljakovin so bile namreč statistično značilne kakor tudi glede izločevanja le-teh z blatom. Statistično značilne so bile tudi razlike v bilanci proučevanih surovih beljakovin. Najmanjša bilanca je bila prav tako pri koncentraciji taninskega preparata 3,0 g/kg.



Preglednica 7: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost surovih beljakovin

| Poskusna skupina          | Kont                | KoEx-<br>0,75      | KoEx-<br>1,5        | KoEx-<br>3,0       | SEM   | P-<br>vrednost |
|---------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------|----------------|
| Zaužite (g/dan)           | 77,79               | 81,01              | 81,85               | 81,73              | 0,631 | 0,0685         |
| Izločene z blatom (g/dan) | 16,33 <sup>ab</sup> | 15,85 <sup>a</sup> | 15,86 <sup>a</sup>  | 22,05 <sup>b</sup> | 0,923 | 0,0351         |
| Izločene s sečem (g/dan)  | 17,12               | 16,32              | 16,26               | 15,77              | 0,605 | 0,8938         |
| Bilanca (g/dan)           | 44,34 <sup>ab</sup> | 49,52 <sup>a</sup> | 50,89 <sup>a</sup>  | 43,90 <sup>b</sup> | 1,132 | 0,0450         |
| Prebavljivost (%)         | 79,02 <sup>ab</sup> | 80,45 <sup>a</sup> | 80,62 <sup>a</sup>  | 73,10 <sup>b</sup> | 1,093 | 0,0400         |
| Izkoristljivost (%)       | 56,97 <sup>ab</sup> | 62,70 <sup>a</sup> | 60,75 <sup>ab</sup> | 53,74 <sup>b</sup> | 1,245 | 0,0433         |

Skupine, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo med seboj

V nadaljnjih preglednicah (preglednica 8, 9, 10 in 11) predstavljeni rezultati ne kažejo nobenega statistično značilnega vpliva na prebavljivost in bilanco surovih maščob in fosforja ter na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost kalcija in železa.

Preglednica 8: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost in bilanco surovih maščob

| Poskusna skupina          | Kont  | KoEx-<br>0,75 | KoEx-<br>1,5 | KoEx-<br>3,0 | SEM   | P-<br>vrednost |
|---------------------------|-------|---------------|--------------|--------------|-------|----------------|
| Zaužite (g/dan)           | 77,66 | 78,92         | 78,33        | 76,85        | 0,562 | 0,6199         |
| Izločene z blatom (g/dan) | 4,36  | 4,06          | 4,31         | 5,30         | 0,235 | 0,2675         |
| Bilanca (g/dan)           | 73,31 | 74,86         | 74,02        | 71,55        | 0,584 | 0,2308         |
| Prebavljivost (%)         | 94,39 | 94,86         | 94,60        | 93,29        | 0,292 | 0,2497         |

Rezultati, podani v preglednici 8, kažejo, da dodatek ekstrakta kostanjevega lesa ni vplival na prebavljivost in bilanco surovih maščob. Nekoliko večje izločanje surovih maščob z blatom je bilo opaziti pri dodatku 3,0 g taninskega preparata na kg, kar je posledično nekoliko zmanjšalo prebavljivost surovih maščob, a nobena razlika ni bila statistično značilna.

Preglednica 9: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost in bilanco fosforja

| Poskusna skupina         | Kont  | KoEx-<br>0,75 | KoEx-<br>1,5 | KoEx-<br>3,0 | SEM   | P-<br>vrednost |
|--------------------------|-------|---------------|--------------|--------------|-------|----------------|
| Zaužit (g/dan)           | 2,23  | 2,22          | 2,24         | 2,23         | 0,016 | 0,9650         |
| Izločen z blatom (g/dan) | 1,48  | 1,28          | 1,39         | 1,61         | 0,063 | 0,3247         |
| Bilanca (g/dan)          | 0,75  | 0,93          | 0,85         | 0,62         | 0,063 | 0,3567         |
| Prebavljivost (%)        | 33,33 | 42,09         | 37,70        | 28,17        | 2,782 | 0,3404         |

Količina zaužitega fosforja je bila podobna v vseh skupinah (preglednica 9). Najvišja koncentracija tanina v krmi je nekoliko povečala izločanje fosforja z blatom in zmanjšala njegovo prebavljivost, vendar vpliv ni statistično značilen. Najmanjša koncentracija tanina v krmi je glede na preostali dve koncentraciji taninskega preparata nekoliko zmanjšala izločanje fosforja z blatom in posledično povečala njegovo prebavljivost, a sta razliki zopet statistično neznačilni.

Preglednica 10: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost kalcija

| Poskusna skupina         | Kont  | KoEx-<br>0,75 | KoEx-<br>1,5 | KoEx-<br>3,0 | SEM   | P-<br>vrednost |
|--------------------------|-------|---------------|--------------|--------------|-------|----------------|
| Zaužit (g/dan)           | 3,64  | 3,75          | 3,79         | 3,83         | 0,029 | 0,1023         |
| Izločen z blatom (g/dan) | 1,78  | 1,57          | 1,68         | 1,98         | 0,083 | 0,3593         |
| Izločen s sečem (g/dan)  | 0,36  | 0,39          | 0,37         | 0,37         | 0,012 | 0,9211         |
| Bilanca (g/dan)          | 1,50  | 1,85          | 1,74         | 1,49         | 0,083 | 0,3316         |
| Prebavljivost (%)        | 50,86 | 58,23         | 55,47        | 48,61        | 2,174 | 0,4051         |
| Izkoristljivost (%)      | 40,91 | 49,12         | 45,73        | 38,95        | 2,127 | 0,3278         |

V preglednici 10 rezultati prikazujejo, da hidrolizirajoči tanini ekstrakta kostanjevega lesa ne učinkujejo statistično značilno na prebavljivost, izkoristljivost in bilanco kalcija. Vsebnost kalcija v seču je bila podobna v vseh proučevanih poskusnih skupinah. Koncentracija tanina 3,0 g/kg je nekoliko povečala izločanje kalcija z blatom, kar je odraz slabše prebavljivosti in izkoristljivosti ter bilance omenjene snovi. Kljub omenjenim odstopanjem pa razlike med poskusnimi skupinami niso statistično značilne.

Preglednica 11: Vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost železa

| Poskusna skupina              | Kont   | KoEx-<br>0,75 | KoEx-<br>1,5 | KoEx-<br>3,0 | SEM   | P-<br>vrednost |
|-------------------------------|--------|---------------|--------------|--------------|-------|----------------|
| Zaužito (mg/dan)              | 107,67 | 121,21        | 122,47       | 110,66       | 1,402 | <0,0001        |
| Izločeno z blatom<br>(mg/dan) | 120,16 | 121,98        | 132,42       | 169,74       | 8,660 | 0,1583         |
| Izločeno s sečem<br>(mg/dan)  | 1,54   | 2,66          | 2,05         | 2,41         | 0,290 | 0,5779         |
| Bilanca (mg/dan)              | -14,03 | -3,10         | -12,94       | -61,73       | 8,866 | 0,0877         |
| Prebavljivost (%)             | -12,85 | -0,53         | 4,15         | -37,65       | 8,496 | 0,3133         |
| Izkoristljivost (%)           | -14,27 | -2,48         | -10,47       | -55,20       | 7,806 | 0,0782         |

V preglednici 11 prikazani rezultati kažejo, da je dodatek ekstrakta kostanjevega lesa nekoliko zmanjšal bilanco železa. Količina železa, izločena z blatom, je v poskusnih skupinah namreč večja kot v kontrolni skupini. To nakazuje, da tanini v krmi živali inhibirajo absorpcijo železa. Največje odstopanje kaže poskusna skupina z največjo vsebnostjo ekstrakta lesa pravega kostanja, a razlika ni statistično značilna. Posledično so seveda tudi prebavljivost, bilanca in izkoristljivost železa v tej skupini najmanjše, vendar so razlike statistično neznačilne.

## 5 RAZPRAVA

S prehransko raziskavo na tekačih smo skušali ugotoviti vpliv s tanini bogatih ekstraktov lesa pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.) na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost surovih beljakovin, surovih maščob, fosforja, kalcija in železa. Živali so zauživale tanin v koncentraciji 0,75, 1,5 in 3,0 g/kg. Ekstrakt kostanjevega lesa je predstavljal komercialni preparat podjetja Tanin Sevnica d.d. Farmatan, ki vsebuje 75 % taninov. Izvleček Farmatan predstavlja mešanico estersko in glikozidno vezanih hidrolizirajočih in kondenziranih taninov, v kateri močno prevladujejo hidrolizirajoči tanini.

Tanine na podlagi različnih kemijskih struktur delimo v dve skupini, ki sta v osnovi sestavljeni predvsem iz različnih fenolnih enot. Kondenzirani tanini so sestavljeni iz večjih in bolj kompleksnih molekul in niso podvrženi hidrolizi v primerjavi s hidrolizirajočimi tanini. Hidrolizirajoči tanini so tudi bolj topni v vodi (Reed, 1995). Najpomembnejša skupna lastnost taninov pa je sposobnost tvorbe vezi z beljakovinami, fosfolipidi in ostalimi snovmi, kot so kovinski ioni (Lavrenčič, 2001). Zaradi strukturne raznolikosti taninov so raziskave o njihovih prehranskih učinkih zapletene, kar je privedlo do zmede v literaturi pri opisovanju njihovih koristnih ali škodljivih učinkov (Mueller-Harvey, 2006). Zaradi razgradnje tekom pasaže skozi prebavni trakt na manjše fenolne podenote, ki se nadalje absorbirajo in povzročajo nekrotične spremembe na ledvicah in jetrih so hidrolizirajoči tanini lahko tudi toksični (Jansman in Longstaff, 1993).

Taninom predpisujejo predvsem antinutritivne lastnosti, saj lahko tvorijo komplekse z beljakovinami, ogljikovimi hidrati, prebavnimi encimi, nekaterimi minerali in vitamini ter tako zmanjšajo prehransko vrednost krme. Najbolj opazna in raziskovana negativna posledica omenjenih polifenolnih snovi je vezava na beljakovine, ki se posledično kaže v zmanjšani prebavljivosti le-teh, saj so v večjem obsegu neizkoriščeno izločene z blatom. V naši prehranski raziskavi se je pokazalo, da dodatek 3,0 g ekstrakta kostanjevega lesa na kg statistično vpliva na slabšo prebavljivost in izkoristljivost beljakovin. Tudi bilanca proučevanih surovih beljakovin je bila najmanjša pri dodatku taninskega preparata 3,0 g/kg. Podobno so Antongiovanni in sod. (2007) pri rastočih prašičih ugotovili zmanjšano prebavljivost dušika pri zauživanju 5,0 g taninov iz vodnega ekstrakta kostanjevega lesa na

kg popolne krmne mešanice. Vpliv komercialnega preparata Farmatan podjetja Tanin Sevnica d. d., ki je vseboval 55 % kostanjevih taninov na izkoristljivost hranil krme so proučevali tudi Salobir in sod. (1997, 2005) ter ugotovili, da dodatek tanina v krmi prašičev v koncentraciji 4,5 g/kg zmanjšuje izkoristljivost beljakovin in nadalje zmanjša njihovo prebavljivost.

V kostanju prevladujejo hidrolizirajoči tanini, v navadnem bobu (*Vicia faba* L.) pa kondenzirani tanini, ki prav tako zmanjšajo prebavljivost beljakovin, kar so proučili številni avtorji (Jansman in sod., 1993, cit po Van Leeuwen in sod., 1995; Jansman in sod., 1995; Longstaff in McNab, 1991a; Mangan, 1988). Zmanjšana prebavljivost beljakovin in nadalje povečane izgube z blatom izločenega dušika so bili po njihovi razlagi posledica ali povečanega izločanja slabo prebavljenih taninsko beljakovinskih kompleksov ali zmanjšane aktivnosti encimov, ki razgrajujejo beljakovine ali povečane sekrecije endogenih beljakovin.

Številne temeljne raziskave bodo še potrebne, da bi razjasnili vpliv taninov na prebavljivost maščob. V naši raziskavi se je namreč pokazalo, da ekstrakt lesa pravega kostanja ni imel nobenega značilnega vpliva na prebavljivost maščob pri prašičih. Nekoliko večje izločanje surovih maščob z blatom je bilo sicer zaznati pri dodatku 3,0 g taninskega preparata na kg, kar je povzročilo tudi nekoliko slabšo prebavljivost maščob, a razliki nista bili statistično značilni. Prav nasprotno so pri piščancih Marquardt in sod. (1977) zabeležili povečano prebavljivost maščob pri krmljenju ekstrakta iz luščin navadnega boba, medtem ko sta Longstaff in McNab (1991a) prišla do sklepa, da pri piščancih visoka koncentracija taninov v luščinah navadnega boba zavira prebavljivost maščob, kar je bila posledica zmanjšane aktivnosti lipaze. V nadaljnjih raziskavah pa Lonstaff in McNab (1991b) ob povečani aktivnosti prebavnega encima lipaze pri krmljenju krme z nizko koncentracijo omenjenih taninov nista opazila ugodnega vpliva na prebavljivost maščob.

O kompleksih taninov z mineralnimi snovmi je tudi le malo znanega. Na podlagi naše raziskave dodatki ekstrakta lesa pravega kostanja v koncentraciji 0,75, 1,5 in 3,0 g/kg niso pokazali nobenega statistično značilnega vpliva na prebavljivost in bilanco fosforja ter na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost kalcija in železa. Nakazani sta sicer bili slabša

prebavljivost in bilanca ter izkoristljivost proučevanih mineralov pod vplivom najvišje koncentracije dodanega tanina v krmno mešanico prašičev, a omenjeni vplivi niso bili statistično značilni. Salobir in sod. (1997, 2005) so pri raziskovanju vpliva tanina na učinkovitost delovanja fitaze pri prašičih ugotovili, da je dodatek fitaze izboljšal bilanco ter izkoristljivost fosforja in kalcija. Zaradi dodane fitaze sta se tudi zmanjšali izločanje kalcija s sečem in izločanje fosforja z blatom. Posledično je bila navidezna prebavljivost fosforja povečana. Po njihovih predvidevanjih glede na rezultate analiz seruma do povečane bilance kalcija ni prišlo zaradi izboljšane oskrbe s kalcijem, ampak bolj verjetno posredno z izboljšanjem oskrbe s fosforjem. Visoka raven izločanja kalcija s sečem, znižana raven fosforja in povišana raven kalcija v krvi so namreč kazalci pomanjkanja oz. visoke stopnje mobilizacije fosforja iz kosti. Rezultati izkoristljivosti tako fosforja in kalcija pa niso pokazali, da bi taninski preparat v obliki Farmatan-a, ki je vseboval 55 % kostanjevih taninov, vplival na delovanje eksogene fitaze. Samo še Bennick (2002) navaja, da prevelika vsebnost zaužitih taninov zavira absorpcijo kalcija, kar lahko privede do osteoporoze in da tanini z železom tvorijo t.i. kelatne komplekse, ki lahko povzročajo anemijo, saj vezan ion ni več ni razpolago. Po trditvah EFSA (2005) pa naj bi v nasprotju preparat Farmatan učinkoval na obsežnejšo absorpcijo železa pri prašičih. Uporabljen preparat je vseboval 55 % hidrolizirajočih taninov iz lesa sladkega kostanja in je bil dodan v krmo v koncentraciji 5 g/kg. V naši raziskavi je bila oskrba z železom blizu minimalnih potreb, saj glede na NRC (1998) znašajo okoli 80 mg/dan pri prašičih telesne mase od 10 do 20 kg. Poleg tega smo pomislili tudi na kontaminacijo v samih bilančnih kletkah predvsem pri zbiranju vzorcev blata. Zato je bil vpliv taninskega ekstrakta kostanjevega lesa na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost železa vprašljiv.

Koristen učinek taninov pa se kaže v tem, da so znani kot prehranski oz. eksogeni antioksidanti, saj v pogojih oksidacijskega stresa uravnotežijo porušeno ravnovesje med prostimi radikali in antioksidanti v bioloških sistemih. Polifenolom se namreč pripisuje sposobnost lovljenja prostih radikalov, za katero je odgovorna njihova kemijska struktura. Njihov sistemski *in vivo* antioksidativni potencial pa je v veliki meri odvisen od absorpcije v prebavilih ter v manjši meri od njihovega lokalnega delovanja v prebavnem traktu (Scalbert in sod., 2002, cit. po Frankič, 2009). Frankič (2009) je v prehranski raziskavi z mladimi prašiči z enako koncentracijo ekstrakta iz kostanjevega lesa kot v naši raziskavi

ugotovila, da je bila učinkovitost rastlinskega ekstrakta za zmanjšanje oksidacijskega stresa primerljiva ali celo boljša kot učinkovitost vitamina E. Zato bi ga bilo morda možno uporabiti tudi z vidika ohranjanja zdravja živali in oksidacijske zaščite živalskih proizvodov. Prehranski oksidacijski stres so *in vivo* izzvali z lanenim oljem, ki je vseboval 72,28 % w/w PUFA, od tega 57,93 % n-3 PUFA. Razmerje n-6:n-3 v lanenem olje je bilo 1:4. Živali, katerim so bile v krmo dodane omenjene koncentracija taninov, so dobile 31,8 % dnevne energije iz maščob oz. 14,8 % iz PUFA. S prekomernim dodajanjem n-3 PUFA z lanenim oljem v prehrano prašičev so v organizmih vzpostavili stanje izredne občutljivosti, saj so n-3 PUFA zaradi velikega števila dvojnih vezi in njihove pozicije bile zelo podvržene oksidaciji. Ustvarjeni pogoji, ko je v organizmu velika količina snovi, ki hitro oksidirajo, so namreč omogočali jasnejše ugotavljanje antioksidativnega vpliva proučevanih rastlinskih ekstraktov.

Na podlagi rezultatov prehranske raziskave lahko zaključimo, da je učinek dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja odvisen od koncentracije. Najbolj je izražen pri najvišji koncentraciji. Hidrolizirajoči tanini kostanja (*Castanea sativa* Mill.) so pri največji koncentraciji (3,0 g/kg) vplivali na povečano izločanje surovih beljakovin z blatom, ki je odraz slabše prebavljivosti. Na preostala hranila (surove maščobe, fosfor, kalcij in železo) pa taninski preparat v obliki pripravka Farmatan podjetja Tanin Sevnica d. d. ni učinkoval oz. uporabljen rastlinski ekstrakt ni vplival na prebavljivost preostalih poučevanih hranil. Rezultati raziskave so torej potrdili delovno hipotezo, da tanini v krmi zmanjšujejo le prebavljivost beljakovin, vendar le pri največji koncentraciji.

## 6 SKLEPI

- Dodatek ekstrakta lesa pravega kostanja v koncentraciji 3,0 g/kg je povečal izločanje beljakovin z blatom, kar je privedlo do slabše prebavljivosti beljakovin in manjše bilance ter izkoristljivosti beljakovin.
- Dodatek ekstrakta lesa pravega kostanja v koncentraciji 0,75, 1,5 in 3,0 g/kg ni pokazal nobenega vpliva na prebavljivost in bilanco surovih maščob in fosforja.
- Dodatek ekstrakta lesa pravega kostanja prav tako ni imel vpliva na prebavljivost, bilanco in izkoristljivost kalcija in železa.
- Rezultati prebavljivosti in bilance ter izkoristljivosti mineralnih snovi in surovih maščob ne kažejo učinkovanja taninskega preparata.



## 7 VIRI

- Antongiovanni M., Minieri S., Petacchi F. 2007. Effect of tannin supplementation on nitrogen digestibility and retention in growing pigs. *Italian Journal of Animal Science*, 6: 245-247
- Bennick A. 2002. Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13, 2: 184-196
- De Lange C.F.M., Nyachoti C.M., Verstegen M.W.A. 2000. The significance of antinutritional factors in feedstuffs for monogastric animals. V: *Feed evaluation: principles and practise*. Moughan P.J., Verstegen M.W.A., Visser-Reyneveld M.I. (eds.). Wageningen, Wageningen Pers: 169-188
- EFSA. 2005. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in animal Feed on a request from the Commission on the safety and efficacy of the product Farmatan for rabbits and piglets. *The EFSA Journal*, 222: 1-20
- Espín J.C., García-Conesa M.T., Tomás-Barberán F.A. 2007. Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*, 68, 22-24: 2986-3008
- Farmatan – kostanjev ekstrakt za živalsko prehrano. Sevnica, Tanin Sevnica. [http://www.tanin.si/podstrani\\_slo/prehrana\\_zivali/farmatan.php](http://www.tanin.si/podstrani_slo/prehrana_zivali/farmatan.php) (19. mar. 2009)
- Farmatan. Naravni izvleček pridobljen iz zdravega kostanjevega lesa. Sevnica, Tanin Sevnica. [http://www.tanin.si/slo/04-01\\_farmatan.html](http://www.tanin.si/slo/04-01_farmatan.html) (14. dec. 2007)
- Frankič T. 2009. Vpliv nekaterih rastlinskih ekstraktov na oksidacijski status pri rastočih prašičih. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 98 str.
- Frankič T., Salobir J. 2007. Antioksidanti v prehrani živali: pomen za živali in porabnike. V: *Zbornik predavanj 16. posvetovanja o prehrani domačih živali "Zdravčevi-Erjavčevi dnevi"*, Radenci, 8-9 nov. 2007. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarski zavod: 27-40

Grm S. 2006. Vpliv kostanjevega tanina na rast in encimske aktivnosti vampnih bakterij *Streptococcus bovis* in *Selenomonas ruminantium*. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 62 str.

Hagerman A.E. 2002. Tannin Chemistry. Miami University.  
<http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf> (30. jun. 2009)

Hagerman A.E., Robbins C.T., Weerasuriya Y., Wilson T.C., McArthur C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45: 55-62

Huisman J., Van der Poel A.F.B., Verstegen M.W.A., Van Weerden E.J. 1990. Antinutritional Factors (ANFs) in Pig Production. *World Review of Animal Production*, 25, 2: 78-82

Jansman A.J.M. 1993. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, 6: 209-236

Jansman A.J.M., Huisman J., Van der Poel A.F.B. 1993. Ileal and faecal digestibility in piglets of field beans (*Vicia faba* L.) varying in tannin content. *Animal Feed Science and Technology*, 42: 83-96

Jansman A.J.M., Longstaff M. 1993. Nutritional effects of tannins and vicine/convicine in legume seeds. V: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds: proceedings of the Second International Workshop on 'Antinutritional Factors (ANFs) in Legume Seeds'. Van der Poel A.F.B., Huisman J., Saini H.S. (eds.). EAAP Publication No. 70: 301-316

Jansman A.J.M., Verstegen M.W.A., Huisman J., Van den Berg J.W.O. 1995. Effects of Hulls of Faba Beans (*Vicia faba* L.) with a Low or High Content of Condensed Tannins on the Apparent Ileal and Fecal Digestibility of Nutrients and the Excretion of Endogenous Protein in Ileal Digesta and Feces of Pigs. *Journal of Animal Science*, 73: 118-127

- Jordanov S., Kitanova G., Petlov D. 2001. Učinkovitost FARMATANA pri zgodaj odstavljenih pujskih v pogojih industrijske farmske reje. V: 9. tradicionalno posvetovanje "Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali", Podčetrtek, 22. mar. 2001. Sevnica, Tanin: 29-33
- Komprej A., Orešnik A., Pogačnik M., Vidrih A. 2003. Vpliv peroralno dodanih kostanjevih taninov na dnevni prirast in sestavo iztrebkov pri ovcah in kozah. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo (Zootehnika), 82, 1: 25-36
- Kos T. 2007. Vpliv taninov na tvorbo kratkoverižnih maščobnih kislin in metana pri *in vitro* fermentaciji v vampnem soku. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 66 str.
- Kumar R. 1992. Anti-nutritional factors, the potential risks of toxicity and methods to alleviate them. V: Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock. Speedy A., Pugliese P.L. (eds.). Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations.  
<http://www.fao.org/docrep/003/t0632e/T0632E00.htm#TOC> (28. maj 2009)
- Lallès J.P., Jansman A.J.M. 1998. Recent progress in understanding of the mode of action and effects of antinutritional factors from legume seeds in non-ruminant farm animals. V: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and rapeseed: Proceedings of the third international workshop on 'Antinutritional factors in legume seeds and rapeseed'. Jansman A.J.M., Hill G.D., Huisman J., Van der Poel A.F.B. (eds.). EAAP Publication No. 93: 219-232
- Lavrenčič A. 2001. Razgradljivost beljakovin v predželodcih prežvekovalcev. V: 9. tradicionalno posvetovanje "Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali", Podčetrtek, 22. mar. 2001. Sevnica, Tanin: 39-47
- Lavrenčič A., Levart A. 2004. Tanini kot silirni dodatki. V: Zbornik predavanj 13. posvetovanja o prehrani domačih živali "Zdravčevi-Erjavčevi dnevi", Radenci, 4-5 nov. 2004. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarski zavod: 204-213

- Lavrenčič A., Levart A. 2006. Effect of tannins on grass silage composition. *Krmiva*, 48, 2: 87-93
- Longstaff M., McNab J.M. 1991a. The inhibitory effects of hull polysaccharides and tannins of field beans (*Vicia faba* L.) on the digestion of amino acids, starch and lipid and on digestive enzyme activities in young chicks. *British Journal of Nutrition*, 65: 199-216
- Longstaff M., McNab J.M. 1991b. The effects of concentration on tannin-rich bean hulls (*Vicia faba* L.) on activities of lipase (*EC* 3.1.1.3) and  $\alpha$ -amylase (*EC* 3.2.1.1.) in digesta and pancreas and on the digestion of lipid and starch by young chicks. *British Journal of Nutrition*, 66: 139-147
- Mangan J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, 1: 209-231
- Marquardt R.R., Ward A.T., Campbell L.D., Cansfield P.E. 1977. Purification, identification and characterization of a growth inhibitor in faba beans (*Vicia faba* L. var. minor). *Journal of Nutrition*, 107: 1313-1324
- Mitaru N.B., Reichert D.B., Blair R. 1984. The Binding of Dietary Protein by Sorghum Tannins in the Digestive Tract of Pigs. *The Journal of Nutrition*, 114: 1787-1796
- Mueller-Harvey I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2010-2037
- Muzquiz M., Wood J.A. 2007. Antinutritional Factors. V: Chickpea breeding and management. Yadav S.S., Redden R., Chen W., Sharma B. (eds.). CAB International: 143-166  
<http://books.google.com/books?hl=sl&lr=&id=zf3VpYKr9aUC&oi=fnd&pg=PA143&dq=polyphenols+pig+piglet+dietary+tannin+digestibility&ots=eoj6rzkhXb&sig=L9JtFj2Y20R7a-phGgP4untNA6o> (28. maj 2009)
- NRC (National Research Council). 1998. Nutrient requirement of swine. 10th edition. Washington D. C., National Academy Press: 189 str.

Orešnik A., Kermauner A. 2000. Prehrana domačih živali. Skripta. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 125 str.

Pravilnik o krmnih dodatkih. Priloga 1. Ur. l. RS št. 47-2282/03

Reed J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*, 73: 1516-1528

Salobir J., Kostanjevec B., Štruklec M., Salobir K. 2005. Tannins reduce protein but not phosphorus utilization of diet with added phytase in pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 14: 277-282

Salobir J., Salobir K., Štruklec M., Kostanjevec B. 1997. Vpliv tanina na učinkovitost delovanja fitaze pri prašičih pitancih. V: Zbornik predavanj posvetovanja o prehrani domačih živali "Zdravčevi-Erjavčevi dnevi", Radenci, 27-28 okt. 1997. Pen A. (ur.). Murska Sobota, Živinorejsko-veterinarski zavod za Pomurje: 49-56

SAS/STAT. 2002-2003. Cary, NC, USA, SAS Institute Inc.

Schiavone A., Guo K., Tassone S., Gasco L., Hernandez E., Denti R., Zoccarato I. 2008. Effects of a Natural Extract of Chestnut Wood on Digestibility, Performance Traits, and Nitrogen Balance of Broiler Chicks. *Poultry Science*, 87: 521-527

Sivka U. 2005. Vpliv vrste in koncentracije taninov na obseg in hitrost *in vitro* fermentacije škroba in celuloz v inokulumu pripravljenem iz vampnega soka. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 59 str.

Sivka U., Lavrenčič A. 2007a. The effect of sweet chestnut extract (Farmatan<sup>®</sup>) on kinetics of *in vitro* cellulose fermentation. *Krmiva*, 49, 3: 127-132

Sivka U., Lavrenčič A. 2007b. Potek fermentacije škroba ob dodatku različnih vrst taninov. *Acta agricultuae Slovenica*, 90, 2: 85-95

Strmčnik N. 2007. vpliv izvlečka iz kostanjevega lesa kot silirnega dodatka na kemično sestavo travne silaže. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 37 str.

Suhoveršnik J. 2005. Vpliv hidrolizirajočih taninov kostanja (*Castanea sativa* Mill.) na mlečnost in sestavo kravjega mleka. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 38 str.

Špari Leben A. 2009. Vpliv s tanini bogatih ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača na izkoriščanje nekaterih hranil pri pitovnih piščancih. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 34 str.

Štruklec M. 2002. Izkušnje uporabe farmatana v prehrani domačih živali. V: 10. tradicionalno posvetovanje "Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali", Podčetrtek, 21. mar. 2002. Sevnica, Tanin: 1-5

Tanini. Wikipedija, prosta enciklopedija. 2009. (15. feb. 2009)  
<http://sl.wikipedia.org/wiki/Tanini> (16. mar. 2009)

Van der Poel A.F.B., Dellaert L.M.W., Van Norel A., Helsper J.P.F.G. 1992. The digestibility in piglets of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by breeding towards the absence of condensed tannins. *British Journal of Nutrition*, 68: 793-800

Van Leeuwen P., Jansman A.J.M., Wiebenga J., Koninkx J.F.J.L., Mouwen J.M.V.M. 1995. Dietary effects of faba-bean (*Vicia faba* L.) tannins on the morphology and function of the small-intestinal mucosa of weaned pigs. *British Journal of Nutrition*, 73: 31-39

Yu F., Moughan P.J., Barry T.N. 1996. The effect of condensed tannins from heated and unheated cottonseed on the ileal digestibility of amino acids for the growing rat and pig. *British Journal of Nutrition*, 76: 359-371

Yuste P., Longstaff M., McCorquodale C. 1992. The effect of proanthocyanidin-rich hulls and proanthocyanidin extracts from bean (*Vicia faba* L.) hulls on nutrient digestibility and digestive enzyme activities in young chicks. *British Journal of Nutrition*, 67: 57-65

Zadravec S. 2001. Testiranje učinkovitosti Farmatan ACID v primerjavi z acidifikanti pri prašičih. V: 9. tradicionalno posvetovanje "Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali", Podčetrtek, 22. mar. 2001. Sevnica, Tanin: 23-28

## **ZAHVALA**

Na koncu se iskreno zahvaljujem mentorju, prof. dr. Janezu Salobirju in asist. dr. Alenki Levart ter doc. dr. Tatjani Pirman za vso strokovno pomoč in podporo pri izdelavi diplomske naloge. Za strokovno pomoč in nasvete pri statistični obdelavi podatki se zahvaljujem dr. Tamari Frankič. Zahvala gre tudi tehničnemu sodelavcu g. Marku Kodri in ga. Anici Mušič za pomoč pri izvajanju in razumevanju analiz v kemijskem laboratoriju oz. vsem zaposlenim na Katedri za prehrano za prijaznost in prijetno vzdušje ob opravljanju obveznosti, ki so zadevale diplomsko delo.

Zahvala gre tudi dr. Nataši Siard za pregled bibliografskega dela naloge in ga. Karmeli Malinger za pregled in popravek angleškega dela naloge.

Hvala še ga. Sabini Knehtl pri urejanju administrativnih zadev tekom celotnega študijskega obdobja.

Sošolcem bi se zahvalila za kakršnokoli pomoč in prijetnemu preživetju časa v študijskih klopeh.

Posebna zahvala pa gre mojima staršema, ki sta me skozi celotno študijsko obdobje podpirala in stala ob strani, da sem lahko dosegla zastavljene cilje. Hvala vama za vse in v zahvalo vama posvečam to diplomsko delo.

Ne smem pa pozabiti na mojega malčka Damjana in življenjskega sopotnika Janeza, ki sta bila strpna in mi v vsakdanjik vnesla srečo in veselje.